

Aus der Klinik für Unfall,- Hand- und Wiederherstellungschirurgie der Medizinischen
Fakultät der Universität Rostock

(Direktor: Prof. Dr. med. Thomas Mittlmeier)

Einfluss einer Kollagen-Elastin-Matrix auf die Beugesehnenheilung beim Kaninchen



Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock
vorgelegt von

Sascha Tobias Beyersdörfer

An
meine Familie

Gutachter:

1. Gutachter:
Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Mittlmeier
Abteilung für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie, Universität
Rostock

2. Gutachter:
Univ.-Prof. Dr. med. Andreas Eisenschenk
Hand und funktionelle Mikrochirurgie Universität Greifswald

3. Gutachter:
Prof. Dr. Michael Schädel-Höpfner
Klinik für Unfallchirurgie, Orthopädie und Handchirurgie Lukaskrankenhaus
GmbH Neuss, Akademisches Lehrkrankenhaus der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

Datum der Einreichung: 26.06.2015

Datum der Verteidigung: 11.05.2016

I. Inhaltsverzeichnis

I.	Inhaltsverzeichnis	2
II.	Abkürzungsverzeichnis.....	5
III.	Zusammenfassung	7
1.	Einleitung.....	8
1.1	Struktur und besondere Situation der Handbeugesehnen	8
1.2	Pathophysiologie der Sehnenheilung	11
1.3	Therapiekonzepte.....	13
1.4	Die Rolle des Kollagens	18
1.5	Elastische Fasern	20
1.6	Klinische Anwendung von Matriderm®.....	20
2.	Ziel der Studie	22
3.	Materialien und Methoden	23
3.1	Experimentelles Modell	23
3.2	Untersuchungsmethoden	25
3.2.1	Passive Beweglichkeit und makroskopischer Befund.....	25
3.2.2	Immunhistochemische und histologische Untersuchungen	26
3.2.2.1	Hämatoxylin-Eosin-Färbung	26
3.2.2.2	CAE Histologie	27

3.2.2.3	Alpha-SM-Aktin	27
3.2.3	Histologische Auswertung	28
3.2.3.1	Hämatoxylin-Eosin-Färbung	28
3.2.3.2	CAE Färbung.....	29
3.2.3.3	Alpha-SM-Aktin	29
3.2.4	Statistische Analyse	30
4.	Ergebnisse	31
4.1	Allgemeine Beobachtungen.....	31
4.2	Range of motion	31
4.3	Sehnendistanz.....	31
4.4	Makroskopisches Adhäsionsausmaß	33
4.5	Mikroskopisches Adhäsionsausmaß	35
4.6	Leukozyteninfiltration.....	37
4.7	Myofibroblastenformation	39
5.	Diskussion	41
5.1	Diskussion von Material und Methode.....	41
5.1.1	Etablierte Modelle zur Untersuchung der Sehnenheilung.....	41
5.1.1.1	In-vitro Sehnentraumamodelle	41
5.1.1.2	Humane Sehnentraumamodelle	42
5.1.1.3	Tierexperimentelle Sehnentraumamodelle	42
5.1.2	Sehnentraumainduktion mittels operativer Durchtrennung.....	43
5.1.3	Das Kaninchen als Versuchstier.....	43
5.1.4	Anwendung von Matriderm®	43
5.1.5	Anwendung von FiberWire®.....	44

5.1.6	Anwendung der modifizierten Sehnennaht nach Kirchmayr-Kessler	44
5.1.7	Gruppen und Zeitpunkte der Untersuchung	45
5.1.8	Immobilisation versus Mobilisation	46
5.1.9	Diskussion der Untersuchungstechniken.....	46
5.1.9.1	Bewegungsausmaß.....	46
5.1.9.2	Sehnendistanz.....	47
5.1.9.3	Adhäsionsausmaß.....	47
5.1.9.4	Entzündungsreaktion.....	48
5.2.	Diskussion der Ergebnisse	50
5.2.1	Stabilität der Sehnennaht	50
5.2.2	Makroskopisches und mikroskopisches Adhäsionsausmaß.....	51
5.2.3	Entzündungsreaktion.....	52
5.2.4	Fibroblastendifferenzierung	54
5.3	Limitation und Ausblick.....	55
6.	Thesen	57
7.	Literaturverzeichnis	59
8.	Publikationen	67
9.	Eidesstattliche Erklärung	68
10.	Danksagung	69

II. Abkürzungsverzeichnis

α SMA	alpha smooth muscle actin
°C	Grad Celsius
Aa.	arteriae
AK	Antikörper
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CAE	Chloracetatesterase
cm	Zentimeter
d.h.	das heißt
DIP	distales Interphalangeal gelenk
DNS	Desoxyribonukleinsäure
ECM	Extrazellulärmatrix
FGF	Fibroblast growth factor
h	Stunde
HE	Hämatoxylin-Eosin
IL	Interleukin
i.m.	intramuskulär
IEC	Institut für experimentelle Chirurgie
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
Mg	Magnesium
M.	musculus
Mm.	musculi
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
N	Newton
n	Anzahl
nm	Nanometer
O ₂	Sauerstoff
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PDGF	platelet derived growth factor

PIP	proximales Interphalangeal gelenk
PDS	Polydioxanon
TGF- β	transforming growth factor
TNF- α	Tumornekrosefaktor alpha
z.B.	zum Beispiel
μg	Mikrogramm
μm	Mikrometer

III. Zusammenfassung

Beugesehnenverletzungen können trotz adäquater Behandlung nach wie vor zu Funktionsdefiziten und vermehrter Narbenbildung im Reparaturbereich führen. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob das Einbringen einer Kollagen-Elastin-Matrix (Matriderm®) die Bildung von peritendinösen Adhäsionen verringert und ein besseres Gleiten der Sehne ermöglicht. Ebenfalls wurde evaluiert, ob die 4-Strang-Naht der 2-Strang-Naht überlegen ist, bzw. zu einer vermehrten Gewebereaktion und Narbenbildung führt. Hierfür wurden jeweils zwei Sehnen der Hinterläufe von 28 Kaninchen operativ durchtrennt und anschließend mit oder ohne Vlies in 2-Strang- oder 4-Strang-Nahttechnik versorgt. Nach einer aktiven Nachbehandlungsperiode von drei bzw. acht Wochen wurde die passive Beweglichkeit der Hinterläufe überprüft. Im gleichen Schritt erfolgte die Sehnenentnahme und das makroskopische Adhäsionsausmaß sowie die Distanz der beiden Sehnenenden wurden bestimmt. Acht gesunde Gegenproben der nicht operierten Hinterläufe fungierten als Kontrolle. Die in Formalin fixierten Sehnen dienten der weiteren histologischen Aufarbeitung mit Bestimmung des makroskopischen Adhäsionsausmaßes (Hämatoxylin-Eosin-Färbung), der Entzündungsaktivität (Chloracetatesterase-Färbung) und Gewebereaktion (Myofibroblastenformation mittels α -smooth-muscle-actin Immunhistochemie). Die Bestimmung der Sehnendistanz zeigte, dass die 4-Strang-Naht das Auseinanderweichen der Sehnenenden verringert (Mittelwerte der Grade nach Tang: 1,26 2-Strang-Naht, 0,52 4-Strang-Naht). Dabei wurde kein signifikanter Anstieg der Entzündungsaktivität (Mittelwerte CAE-positive Zellen/mm²: 4,64 2-Strang-Naht, 5,30 4-Strang-Naht) oder der Gewebereaktion (Mittelwerte α -SMA-Expression n/mm²: 9,48 2-Strang-Naht, 10,29 4-Strang-Naht) gemessen. Die Verwendung einer 4-Strang-Naht könnte klinisch zu besseren Ergebnissen führen. Matriderm® führte makroskopisch zu besseren Ergebnissen, die sich aber mikroskopisch nicht bestätigen ließen. Signifikant erhöhte Entzündungszellinfiltrate (Mittelwerte CAE-positive Zellen/mm²: 2,82 ohne Matriderm®, 6,96 mit Matriderm®), sowie eine ausgeprägte Gewebereaktion (Mittelwerte α -SMA-Expression n/mm²: 7,27 ohne Matriderm®, 12,31 mit Matriderm®) sprechen gegen den Einsatz zur Prävention von Adhäsionen.

1. Einleitung

1.1 Struktur und besondere Situation der Handbeugesehnen

Sehnen sind das Bindeglied zwischen Muskulatur und Knochen. Sie übertragen Muskelkraft auf den Knochen, ermöglichen Gelenkbewegungen und stabilisieren diese. Darüber hinaus können sie helfen, Muskel und Knochen vor Schaden zu bewahren, indem sie Energie passiv speichern, abgeben oder abführen (1).

Ihr biomechanisches Verhalten hängt von der Intensität der Belastung ab: Die viscoelastische Beschaffenheit befähigt sie dazu, sich bei niedrigen Belastungen zu deformieren und Energie zu absorbieren. Bei hohen Belastungen beobachtet man ein gegensätzliches Verhalten (2). Gesunde Sehnen besitzen eine enorme Zugfestigkeit: Eine Sehne mit 1 cm² Durchmesser hält Belastungen von 500 bis 1000 kg stand. So werden an der Achillessehne des Menschen Kräfte des 12,5 fachen Körpergewichtes gemessen. Dabei spielt nicht nur die Dicke der Sehne eine tragende Rolle, sondern auch der Gehalt des Kollagens und dessen Zusammensetzung.

Den Hauptanteil bildet das Kollagen Typ I mit einem Anteil von 65-80 % an der Trockenmasse, welche 30 % beträgt (3). 2 % entfallen auf das Glykoprotein Elastin, dessen Funktion in der Wiederherstellung der Wellenkonfiguration der Kollagenfasern nach einer Dehnung zu liegen scheint. Weitere Bestandteile sind Proteoglykane (z.B. Aggrecan und Decorin), Glykoproteine (Tenascin-C, Fibronectin) und Glukosaminoglykane (2). Bei den zellulären Bestandteilen handelt es sich in 90-95 % um Tenozyten und Tenoblasten. 5-10 % entfallen auf Chondrozyten am Knochenansatz, Synovialzellen der Sehnenscheide, Endothelzellen und glatte Muskelzellen von Gefäßen. Tenoblasten sind unreife Zellen mit vielen Organellen, welche eine hohe metabolische Aktivität widerspiegeln. Sie synthetisieren die Extrazellulär-Matrix (z.B. Kollagen, Glykoproteine, Proteoglykane) und spielen eine wesentliche Rolle bei der Homöostase, insbesondere auch bei der Sehnenregeneration.

Tenozyten sind adulte Tenoblasten mit geringer Syntheseaktivität. Mit zunehmendem Alter der Sehne ändert sich auch die Energiebereitstellung von aeroben auf vermehrt anaerobe Stoffwechselprozesse.

Die Blutversorgung der Beugesehnen der Hand erfolgt über zwei Systeme, das intrinsische und das extrinsische System. Das intrinsische System liegt an den muskulo- und osteotendinösen Übergängen und das extrinsische System liegt im Paratenonium und der Synovia. Insgesamt variiert die Blutversorgung regional sehr stark und ist insbesondere durch enge anatomische Verhältnisse und Zonen mit hoher Belastung, Spannung und Reibung eingeschränkt. Die O₂-Versorgung ist 7,5 fach geringer als die eines Skelettmuskels, was mit niedrigem Metabolismus und langen Regenerationszeiten nach Verletzungen einhergeht (3).

An der Hand und am Unterarm ist beugeseitig mit vier Sehnen des M. flexor digitorum superficialis, vier Sehnen des M. flexor digitorum profundus und mit jeweils einer Sehne der Mm. flexor pollicis longus, flexor carpi radialis, flexor carpi ulnaris, und bei 80 % der europäischen Bevölkerung, des M. palmaris longus zu rechnen. Im Fingerbereich ziehen die Beugesehnen in sehr engen osteofibrösen Kanälen ohne zirkuläre Synovialgewebsumhüllung. Hier verlaufen die Blutgefäße in einem aufs Äußerste reduzierten Mesotendineum, den Vincula longa und im Ansatzbereich den Vincula breves. Die Blutgefäße, die die Beugesehnen der Hand direkt versorgen, kommen proximal aus dem karpalen Gefäßnetz und verlaufen zusammen mit der Synovialis. Die Hauptdurchblutung erfolgt durch die Aa. digitales palmares propriae, die über die Arcus digitopalmaris proximalis und distalis die Blutgefäße zu den Vincula abgeben. Weiter proximal, im Karpalkanal, erfolgt die Versorgung direkt durch Synovialgewebsauflagerungen, die wiederum aus dem karpalen Netzwerk gespeist werden. An den proximalen und distalen Rändern der Ringbänder befinden sich kleine Aussackungen der Sehnenscheide, „cul de sac“ genannt, welche die Synovialproduktion unterstützen (4).

Beugesehnenverletzungen sind häufige Verletzungen des Menschen, meist durch Schnittverletzungen in der Hohlhand bedingt. Auch korrekt behandelt führen sie zu einem langen Ausfall am Arbeitsplatz und häufig auch zu einem verbleibenden Bewegungs- und Kraftdefizit der betroffenen Hand.

Beugesehnenverletzungen werden anhand ihrer Lokalisation in 5 Zonen eingeteilt:

Zone	Lokalisation
I	Distaler Abschnitt: Ansatz M. flexor digitorum profundus bis Mitte A4 Ringband
II	Mitte A4 Ringband bis prox. Rand A1 Ringband: „No man’s land“
III	A1 Ringband bis distaler Rand des Retinaculum flexorum
IV	Bereich unterhalb des Karpaldaches
V	Proximal des Karpaldaches

Tabelle 1.1: Zoneneinteilung von Beugesehnenverletzungen der 2.-5. Finger.

Beim Daumen findet sich folgende Einteilung:

Zone	Lokalisation
Th1	Ansatz M. flexor pollicis longus bis proximaler Rand des Ringbandes
Th2	Zwischen schrägem Ringband und A1 Ringband
Th3	Strecke unterhalb der Thenarmuskulatur

Tabelle 1.2: Zoneneinteilung von Beugesehnenverletzungen des 1. Fingers.

(Towfigh et al. 2011)

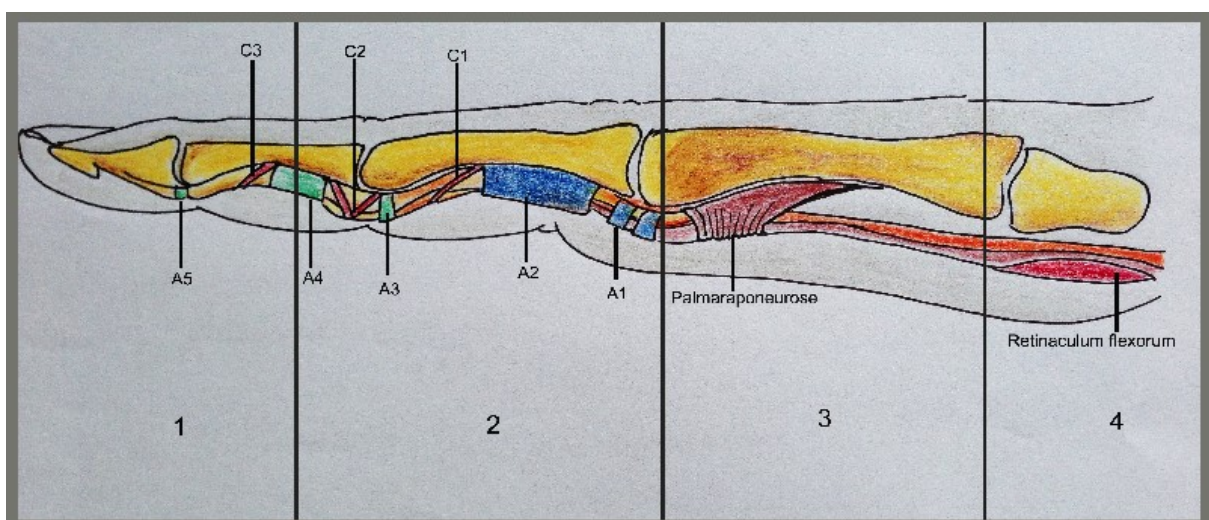


Abbildung 1.1: Zoneneinteilung von Beugesehnenverletzungen, A1-A5: Ringbänder, C1-C3: Kreuzbänder.

Zone 2 Verletzungen (Tabelle 1.1, Abbildung 1.1) beschrieb Sterling Bunnell 1922 aufgrund der schwierigen anatomischen Bedingungen wie der Nähe zu Bändern, den Sehnen der Mm. flexor digitorum superficialis und profundus, dem engen osteofibrösen Kanal und der Tendenz zur Bildung von Adhäsionen, als „Niemandsländ“ (5).

In der Beugesehnenchirurgie sind zwei Hauptprobleme bekannt: Das Ausreißen der Nähte aus der verletzten Sehne und die Bildung von peritendinösen Adhäsionen im Heilungsverlauf. Die Beugesehennähte sind durch die faserige Struktur der Sehne von eingeschränkter Reißfestigkeit. Das häufigste Problem ist ein Ausreißen der Nähte aus der Sehne. Nach wie vor ist nicht abschließend geklärt, welche Nahttechnik, Fadenstärke, welcher Nahttyp, welches Nahtmaterial und welche Fadenstärke optimalerweise verwendet werden sollten. Bei Versagen der Sehnennähte in Zone 2 und 3 nach Nigst (Tabelle 1.1) wird zur Funktionswiederherstellung eine zweizeitige Beugesehnenrekonstruktion nötig, was einen Behandlungszeitraum von mindestens 6 Monaten beansprucht. Bei Bildung ausgedehnter Beugesehnenverklebungen kann eine operative Tenolyse notwendig werden. Heilt die Beugesehennaht unter narbiger Veränderung aus, ist eine Kraftreduktion für den Faustschluss die Folge. Aufgabe der Weiterentwicklung in der Beugesehnenchirurgie ist es deshalb, eine Technik zu finden, die eine ausreichend feste Naht in der Beugesehne verankert und gleichzeitig die Bildung von Adhäsionen verhindert, sodass eine unkomplizierte aktive Nachbehandlung möglich wird. Die ideale Naht sollte eine ausreichende Zugfestigkeit aufweisen, um eine aktive frühfunktionelle Nachbehandlung zu ermöglichen, intrasynoviale Adhäsionen verhindern und die Wiederherstellung der Gleitschicht begünstigen.

1.2 Pathophysiologie der Sehnenheilung

Die Sehnenheilung wird in drei sich überlappende Phasen unterteilt:

Entzündungsphase (0 bis 7 Tage)

Erythrozyten, Thrombozyten und inflammatorische Zellen, insbesondere neutrophile Granulozyten, wandern in den Defektbereich ein. Die Freisetzung von Zytokinen wie

PDGF und TGF- β aus den Thrombozyten und chemotaktischer Substanzen wie Fibronektin, Bradykinin und Histaminen begünstigen die Einwanderung von inflammatorischen Zellen, bewirkt eine Gefäßpermeabilitätssteigerung, eine Angiogenese und stimuliert die Tenozytenproliferation. Es bildet sich ein Wundhämatom und innerhalb einer Stunde nach Verletzung kann ein Fibringerinsel und Fibronektin im Rupturbereich gefunden werden. Makrophagen und andere Leukozyten phagozytieren das nekrotische Gewebematerial innerhalb von 5 bis 7 Tagen.

Reparationsphase (7 Tage bis 6 Wochen)

Stimuliert durch die Wachstumsfaktoren aus den Thrombozyten kommt es zu einer Akkumulation von Fibroblasten, Myofibroblasten und Endotheliumzellen. Diese Phase zeichnet sich durch eine hohe Syntheserate der Fibroblasten aus. Insbesondere werden Kollagen Typ III und Glykosaminoglykane (besonders Hyaluronsäure) synthetisiert. Ab dem 12.-14. Tag wird das Kollagen III durch Kollagen Typ I ersetzt. In diesem Zeitraum findet man auch den höchsten Anstieg von TGF- β .

Umbauphase (ab 6 Wochen)

Die Kollagenfasern, die zunächst ungerichtet im Rupturbereich liegen, orientieren sich zunehmend zur Längsachse. Der DNS-Gehalt der Sehne ist zwar noch hoch, die Teilungsrate im Vergleich zur Reparationsphase aber vermindert. Es erfolgt eine Umgestaltung des Reparationsgewebes mit Verringerung der Zellzahl, der Synthese von Kollagenen und Glykosaminoglykanen. In dieser Phase formiert sich in der Verletzungszone fibröses Gewebe. Diese Phase nennt man Verdichtungsphase weiter unterteilt werden: Zunächst ist eine hohe Syntheseaktivität der Tenozyten mit gesteigerter Produktion von Kollagen Typ I kennzeichnend. Daran schließt sich die Phase der Sehnenreifung an, die sich durch einen stufenweisen Umbau von fibrotischem Gewebe zu vernarbtem Sehnengewebe hin auszeichnet. Diese Prozesse sind häufig erst nach einem Jahr abgeschlossen.

Grundsätzlich unterscheidet man eine extrinsische von einer intrinsischen Sehnenheilung: Intrinsische Prozesse werden von Tenoblasten des Epitenoniums und Endotenoniums initiiert, extrinsische durch die Fibroblasten der Synovialis und des umliegenden Gewebes. Während bei der intrinsischen Form länger und mehr Kollagen produziert wird und damit eine bessere Biomechanik, weniger Komplikationen und eine normale Gleitfunktion der Sehne zum umliegenden Gewebe erreicht werden kann, kommt es bei überwiegend extrinsischen Prozessen zu vermehrter Bildung von Adhäsionen. Zellen des umliegenden Sehnengewebes proliferieren schneller, produzieren weniger Kollagen und Glykosaminoglykane als die Zellen des intrinsischen Systems. Daher sollte bei einer Sehnenverletzung versucht werden, extrinsisch induzierte Heilungsprozesse zu minimieren und die intrinsischen zu fördern (3-4). Eine der wirksamsten Methoden, dies zu realisieren, liegt derzeit in der frühzeitigen Mobilisation der rupturierten Sehne (6).

1.3 Therapiekonzepte

Konservative Therapie

Eine konservative Therapie kann nur bei geschlossenen Beugesehnenverletzungen in Erwägung gezogen werden, ist jedoch wegen der funktionellen Ausfälle nur sehr selten indiziert: Aufgrund des Muskelzuges an dem proximalen Sehnenende distanzieren sich die beiden Sehnenenden weiter voneinander. Dadurch kann die Muskelverkürzung nicht mehr oder nur ungenügend auf das distale Sehnenende übertragen werden und eine Bewegungseinschränkung und Kraftminderung des betroffenen Gelenkes die Folge sein.

Operative Therapie

Indikation für eine primäre operative Versorgung sind saubere Schnitt- und Quetschwunden ab einer Läsion von 50 % des Sehnendurchmessers.

Als häufig benutzter Zugangsweg hat sich der palmare Zickzackschnitt nach Julian Brunner oder der mediolaterale Hautschnitt (Abbildung 1.2) bewährt, da sie die palmare Gefäß-Nervenstraße umgehen (5).



Abbildung 1.2:
Zickzackschnitt am kleinen
Finger, mediolateraler
Hautschnitt am Mittelfinger.

Nach dem Hautschnitt trifft man auf eine Sehnenscheide mit Ringbändern, die beide möglichst geschont werden sollten. Sollte eine Beugesehennennaht unterhalb eines engen Ringbandes erfolgen, ist in der Regel eine Erweiterungsplastik (Abbildung 1.3) der Ringbänder notwendig.

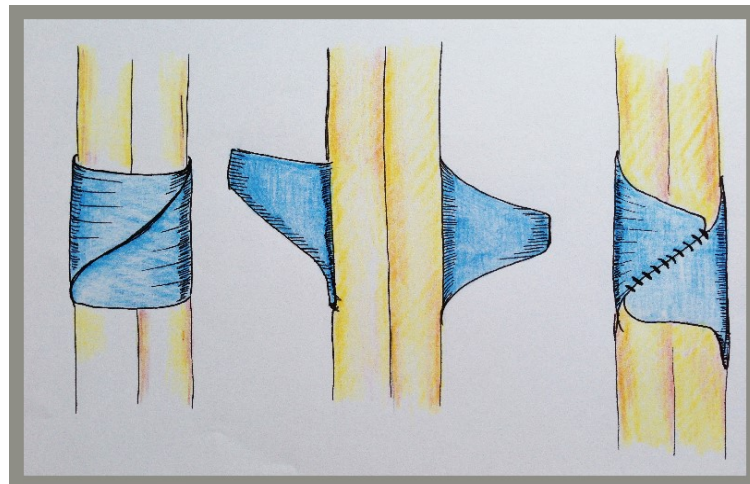


Abbildung 1.3:
Erweiterungs-
plastik der
Ringbänder.

In der Beugesehnenchirurgie gibt es verschiedene Kernnahttechniken. Die modifizierte Kernnaht nach Kirchmayr-Kessler wurde im Rahmen dieser experimentellen Studie als 2- und 4-Strang-Naht verwendet (Abbildung 1.4 A und B).

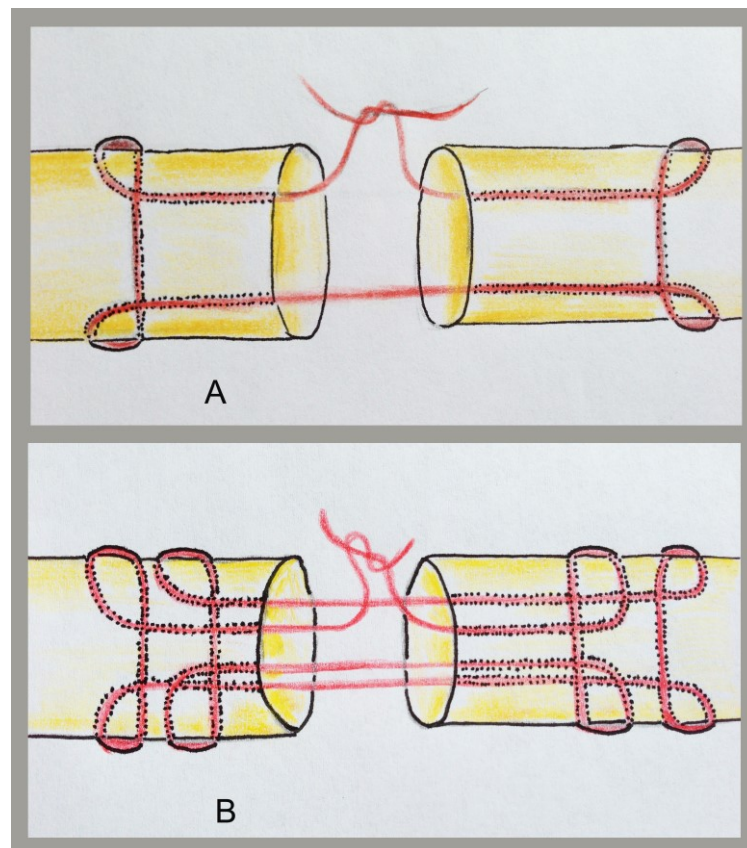


Abbildung 1.4:
A: 2-Strang
Naht, B: 4-
Strang-Naht.

Des Weiteren unterscheidet man zwischen nicht unterschlungenen (grasping, Abbildung 1.5) und unterschlungenen (locking, Abbildung 1.6) Sehnennahtschlaufen. Um eine stabilere Verankerung der Naht zu gewährleisten, wurden in dieser Arbeit locking-Schleifen verwendet.

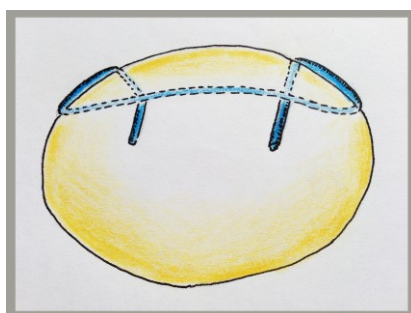


Abbildung 1.5:
nicht unterschlungene
Sehnennahtschlaufen.

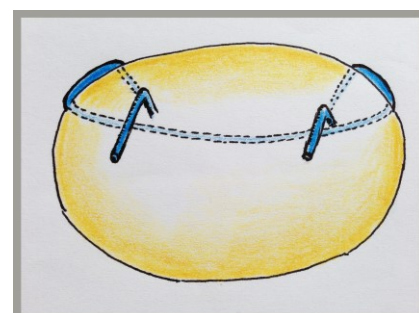


Abbildung 1.6:
unterschlungene
Sehnennahtschlaufen.

Zirkulär um die durchtrennte Stelle wird eine Ringnaht angebracht (Abbildung 1.7), um eine stärkere Annäherung der beiden Sehnenenden zu gewährleisten (4).

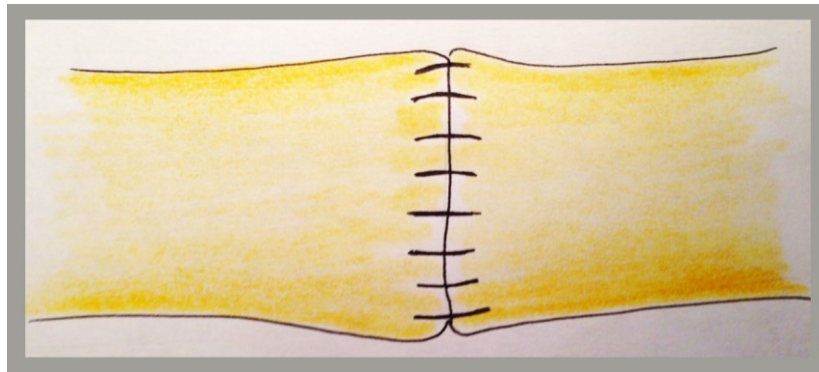


Abbildung 1.7: Feinadaptierende Naht.

Grundsätzlich richtet sich die Therapie immer nach der in der jeweiligen Zone besonderen anatomischen und physiologischen Gegebenheiten (5).

Nahtmaterial

Grundsätzlich können resorbierbare und nicht resorbierbare Fäden zur Sehnennaht verwendet werden. Zu den nicht resorbierbaren Materialien zählen Polypropylene (Prolene), Ethibond, Nylon, Polyester sowie FiberWire®. Resorbierbare Nahtmaterialien wie Polytrimethylene (Maxon) und Polydioxanone (PDS) stellen hierzu eine Alternative dar (7). Die Wahl des Nahtmaterials beeinflusst stark die biomechanische Leistungsfähigkeit von Kernnähten und ist damit ein entscheidender Faktor, der zu einer erfolgreichen Behandlung von Sehnentraumata beitragen kann (8). Häufig genutzte Nahtmaterialien der Kernnaht sind geflochtenes Polyester, monofilamentales Nylon und Monofilament-Polypropylen. Immer häufiger werden nicht resorbierbare Materialien eingebracht. Kernummantelte Fäden (FiberWire®) bieten eine hohe Stärke und Steifigkeit (5) bei gleichzeitig hoher Zugfestigkeit (9). Zudem vereinen kernummantelte Fäden die Vorteile von geflochtenen und glatten Fäden: Einen sichereren Knotensitz durch die Verflechtung und ein verringertes Risiko, beim Durchzug Sehnenfäden mit sich zu reißen.

Der Abstand der Kernnahtverankerung von der Rupturstelle sollte mindestens 10 mm betragen, daher sind Nadeln mit einem kleinen Durchmesser eher ungünstig. Scharfe Nadeln können die Sehne zusätzlich schädigen, weshalb punktförmige oder kurz angeschliffene Nadeln benutzt werden sollten (4). Die Stärke der Kernnaht steigt mit der Anzahl der Stränge (1).

Postoperative Behandlung

Studien haben gezeigt, dass eine postoperative Mobilisierung der betroffenen Sehne Einfluss auf die Fibroblastenproliferation und Kollagenanordnung hat (10). Eine Immobilisierung kann zu einer Abnahme von Spannungs-Dehnungsstärke und Maximalbelastung führen (11). Wegen der postoperativ initial abnehmenden Zugfestigkeit der Sehnennähte, auf ihr Minimum zwei Wochen nach Rekonstruktion, muss ein Ausreißen der Sehnennähte durch zu starke Extension möglichst verhindert werden (1). Frische Sehnennähte halten durchschnittlich einer Spannung von bis zu 30 N stand, nach 5 Tagen nur noch 15 N. Eine 80-90 % Stabilität wird erst nach etwa 12 Wochen erreicht. Erst dann kann eine Vollbelastung erfolgen (4).

Die Anlage einer dorsalen Schienung, die gewisse Bewegungsfreiheiten der Fingergelenke zulässt, jedoch ein Überstrecken vermeidet, findet zur Überbrückung dieser Periode Anwendung in vielen Nachbehandlungsschemata: Das Prinzip dynamischer Flexion (Kleinert Schienung, Abbildung 1.8) im Sinne einer passiven Flexion und aktiven Extension der Fingergelenke wird durch ein am Fingernagel fixiertes dynamisches Zugseil realisiert, welches die Fingerspitze in Mittelhandrichtung zieht und damit eine passive Beugung im DIP- sowie PIP- Gelenk erlaubt.

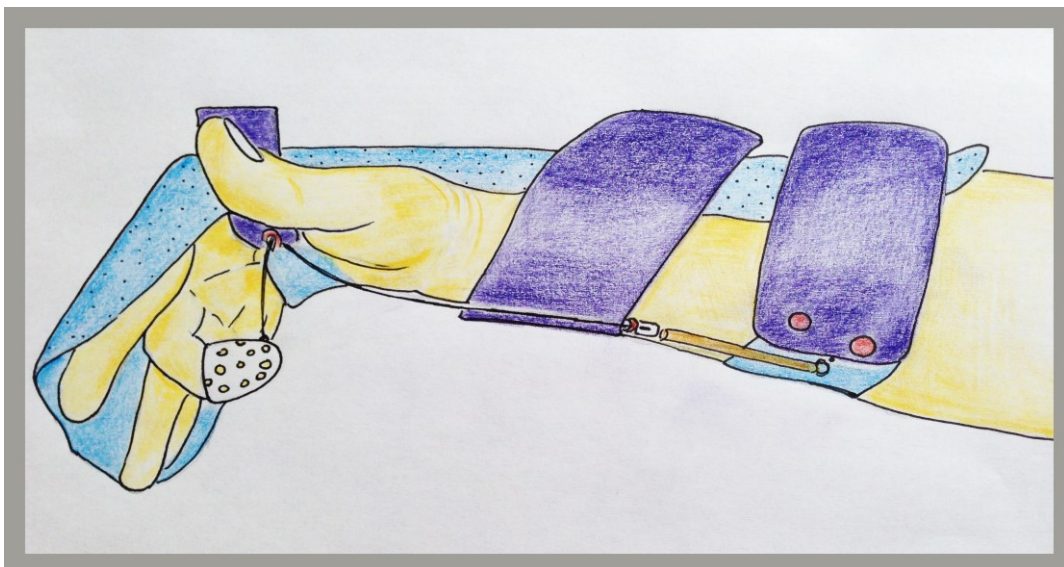


Abbildung 1.8: Kleinert-Schienung

Die dorsal angelegte Schienung hält das Handgelenk in 20-30° und die Metacarpophalangealgelenke in 50-70° Flexion. Um Flexionskontrakturen

vorzubeugen, werden die Finger nachts in Extensionsstellung gebracht. Das Prinzip der passiven Flexion und Extension (nach Duran/Houser) arbeitet ebenfalls mit einer dorsalen Schienung, jedoch müssen hier die Finger rein passiv in Flexion beübt werden. Dieses Modell ist für eine suffiziente Beübung der Finger auf eine höhere Compliance des Patienten angewiesen (5).

Darüber hinaus existieren auch aktive Nachbehandlungsmodelle. Hier wird die Extremität ebenfalls mit einer dorsalen Schienung mit Flexion im Handgelenk und den Metacarpophalangealgelenken versorgt. Während der Übungseinheiten kann auf die dorsale Begrenzung der Extension durch die Schiene verzichtet werden, um eine vollständige Extension des Fingers zu erzielen. Small et. al konnten mit einem aktiven Nachbehandlungsschema, indem die Patienten angewiesen wurden, ab dem zweiten postoperativen Tag über 6 Wochen den Finger jeweils 2 Stunden täglich aktiv und passiv zu strecken und zu beugen, sehr gute Resultate erzielen (12). Hung et al. kamen zu dem Ergebnis, dass aktive Mobilisation vergleichbare Resultate liefert wie die klassischen Modelle (13). Frühe aktive Mobilisation stellt eine alternative Methode in der postoperativen Behandlung von Beugesehnenverletzungen dar (14).

1.4 Die Rolle des Kollagens

Biosynthese

Grundsätzlich kann man Kollagene einteilen in Fibrillen bildende Kollagene (I , II, III, V, XI), Fibrillen assoziierte Kollagene (IX, XII, XIV, XIX, XX, XXI), Quervernetzungskollagene (VIII, X), Mikrofibrillen formendes Kollagen (VI), Basalmembran-Kollagen (IV), Anker-Fibrillen-Kollagen (VII) sowie Transmembran-Kollagene (XIII, XVII) und andere.

Kollagen Typ III zum Beispiel scheint eine Schlüsselrolle in der Regulation der Fibrillogenese und Sehnenverlängerung einzunehmen. Innerhalb einer physiologischen Wachstumsperiode ist sein Anteil verringert und in verletzten Sehnen stark erhöht (15).

Die intrazellulären Syntheseschritte am rauen endoplasmatischen Retikulum führen zur Bildung von wasserlöslichem Prokollagen. Im ersten Schritt erfolgt eine

cotranslationale Hydroxylierung von Prolin- und Lysin-Resten. Anschließend erfolgt die Glycosylierung einzelner Hydroxylysin-Reste und die Freisetzung der Polypeptidkette mit disulfidverbrückten und N-glykosylierten Propeptiden. Durch Assemblierung von drei Polypeptidketten unter der Bildung einer Tripelhelix entsteht das Prokollagen.

Im Extrazellulärraum erfolgt die Abspaltung der N- und C-Propeptide zum Tropokollagen (=Kollagen) (16).

Organisation

Das Kollagen in einer Sehne ist hierarchisch strukturiert: Tropokollagen hat einen Durchmesser von etwa 1,5 nm und bildet als wasserlösliches Molekül den Grundbaustein. Es besteht aus drei zueinander helikalen Kollagen-Polypeptid Ketten. Durch Quervernetzung von fünf Tropokollagenen entsteht eine wasserunlösliche Mikrofibrille (1). Dabei werden durch die Lysyloxidase Hydroxylysinreste bzw. Lysin zu Allysin kupferabhängig oxidiert (17). Einige Mikrofibrillen bilden dann die im Elektronenmikroskop sichtbaren Kollagenfibrillen und diese wiederum bilden die lichtmikroskopisch sichtbare Basiseinheit der Sehne, die Kollagenfaser (1).

Die longitudinalen Fasern innerhalb einer Fibrille sind nicht nur parallel angeordnet, sie formen Spiralen und kreuzen sich (longitudinal zu transversal/horizontal verlaufenden Fasern: 10:1 - 26:1). Zusammen mit einigen horizontal und transversal verlaufenden Fasern ergibt sich eine verbesserte Dehnungskapazität auch bei Rotationsbelastung der Sehne.

Typ I und Typ III Kollagen bilden zusammen mit elastischen Fasern das Paratenonium, welches die Sehne umhüllt und ihre freie Beweglichkeit der Sehne im umliegenden Gewebe erlaubt. Darunter angrenzend findet sich ein dichtes fibrilläres Netzwerk aus Kollagen von 8-10 µm Dicke, das Epitenonium, welches an der inneren Seite mit dem Endotenonium in Verbindung steht. Das Endotenonium, ein dünnes retikuläres Bindegewebsnetzwerk innerhalb der Sehne mit gut ausgebildeten, gitterartig angeordneten kollagenen Fibrillen, transportiert Blutgefäße, Nerven und lymphatisches Gewebe und ermöglicht ein Gleiten der Fasern (Abbildung 1.9).

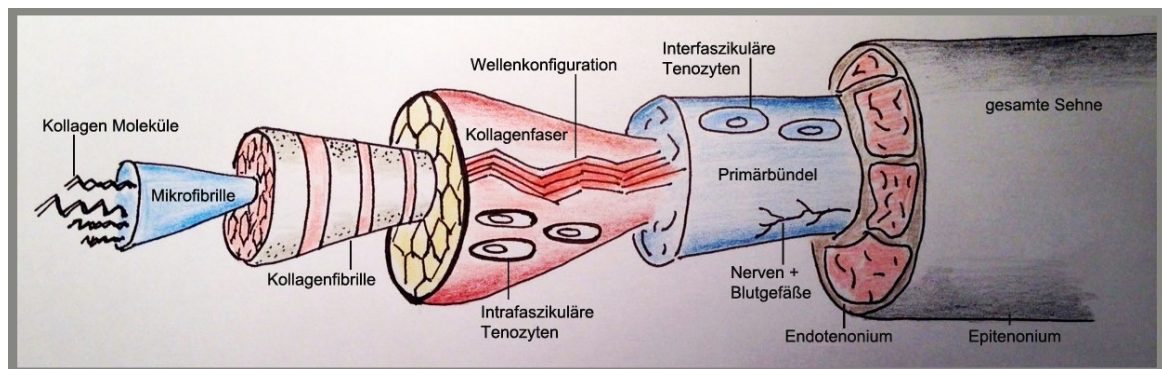


Abbildung 1.9: Aufbau einer Sehne

Es dringt zwischen die Kollagenfasern ein und verbindet diese zu Primär-, Sekundär- und Tertiärbündeln. Der Durchmesser eines Tertiärbündels variiert zwischen 1000 und 3000 μm , der von Sekundärbündeln von 150 bis 1000 μm . Innerhalb sowie zwischen diesen Bündeln findet man wellenartige Formationen, deren Kräuselungswinkel zwischen $0-60^\circ$ variiert. Verantwortlich hierfür ist ein veränderter Anteil der Proteoglykan-Quervernetzungen. Untersuchungen haben gezeigt, dass eine Dehnung der Sehne unterhalb 4 % als physiologisch anzunehmen ist. Ab einer Dehnung von 8 % wird eine Ruptur sehr wahrscheinlich (18).

1.5 Elastische Fasern

Die Funktion des Elastins liegt in der Wiederherstellung der Wellenkonfiguration nach einer Dehnung. Letztendlich ist über das im Durchmesser 0,3-2 μm dicke Filament noch wenig bekannt. Es besteht im Wesentlichen aus 2 Komponenten: Einem amorphen zentralen Kern und elektronendichten Filamenten (18).

1.6 Klinische Anwendung von Matriderm®

Matriderm® (von der Dr. Suwelack Skin & Health Care AG entwickelt) besteht aus den Hautkollagenen Typ I, III und V sowie löslichem Elastin in einer offenporigen Struktur. Diese hochporöse Matrix erhält die Eigenschaften nativen Kollagens. Bislang wird Matriderm® in der operativen Versorgung von Vollhautdefekten beim

Menschen eingesetzt in Kombination mit Spalthauttransplantaten, wobei das Kollagen-Elastin-Vlies die fehlende Hautkomponente funktionell ersetzt, sodass es möglich ist, etwa freiliegende Strecksehnen auf dem Handrücken ohne aufwändige Lappenplastik in einem Operationsschritt zu decken. In mehrjährigen Anwendungsstudien konnte gezeigt werden, dass durch die Verwendung von Matriderm® eine voll funktionsfähige Verschiebeschicht unter den Spalthauttransplantaten erreicht wird, ohne dass wie bei einer Lappenplastik eine zusätzliche Hebemorbidität entsteht. Das Vlies ist in trockenem sowie im feuchten Zustand flexibel und stabil, daher technisch auch auf engem Raum in einer Beugesehnenscheide anwendbar.

2. Ziel der Studie

Ziel der vorliegenden experimentellen Arbeit war es zu untersuchen, welchen Einfluss eine Kollagen-Elastin-Matrix und die Anzahl der Kernnähte auf das Heilungsverhalten bei Sehnentraumata hat. Dabei wurde insbesondere auf folgende Punkte eingegangen:

1. Verändert sich das Ausmaß der peritendinösen Verwachsungen, wenn mehr Kernnähte in die verletzte Sehne eingebracht werden?
2. Kann die Ummantelung der Nahtstelle mit einem Kollagen-Elastin-Vlies die Bildung von peritendinösen Verwachsungen vermindern?
3. Hat Matriderm® einen Einfluss auf die Sehnenheilung?

Zur Objektivierung wurden folgende Verfahren eingesetzt:

1. Das passive Bewegungsausmaß der distalen und proximalen Interphalangealgelenke der entsprechenden Sehnen.
2. Der makroskopische Befund der Sehnennaht nach Tang direkt vor Entnahme der Sehne.
3. Der mikroskopische Befund mittels drei unterschiedlicher Verfahren:
 - Hämatoxylin-Eosin Färbung zur Bestimmung des Adhäsionsausmaßes anhand der Dicke des peritendinösen Raumes.
 - Chlor-Acetat-Esterase-Färbung zur Kenntlichmachung der neutrophilen Granulozyten.
 - Alpha-SM-Actin-Färbung als Marker der Myofibroblastenformation.

3. Materialien und Methoden

3.1 Experimentelles Modell

Die Beugesehnen beim Kaninchen entsprechen im Querschnitt fast den Kleinfingerbeugesehnen eines erwachsenen Menschen und die Sehnenheilung verläuft in zeitlich ähnlichem Rahmen, sodass eine Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen möglich ist. Das Kaninchenmodell ist ein in mehreren Studien evaluiertes tierexperimentelles Modell (6, 19-21).

Die Versuche wurden an 28 ausgewachsenen weiblichen weißen Neuseeland- Kaninchen mit einem Gewicht von 2670 bis 4280 Gramm durchgeführt. Die Tiere wurden in einem klimatisierten Raum der Tierhaltung des Institutes für Experimentelle Chirurgie der Universität Rostock artgerecht nach den Richtlinien des deutschen Tierschutzgesetzes unter Bereitstellung von Laborfutter für Nager und Wasser ad libitum in Einzelkäfigen gehalten. Das Forschungsvorhaben wurde von der Genehmigungsbehörde des Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamtes Mecklenburg-Vorpommern genehmigt.

Operationsverlauf zur Traumainduktion

Nach Randomisierung der Tiere und Zuordnung zu den einzelnen Gruppen wurden die Tiere mittels i.m. Gabe von Ketamin-Hydrochlorid 35 mg/kg KG und Xylazin 5 mg/kg KG in die Narkose eingeleitet.

Diese wurde unter Spontanatmung mit Ketamin-Hydrochlorid 0,3 mg/kg KG und Xylazin 5 mg/kg KG i.m. fortgeführt.

Die Narkosedauer betrug jeweils etwa 30 Minuten. Das Austrocknen der Augen wurde durch Aufbringen von Pura-Lube® Vet Creme verhindert. Die Tiere wurden während der gesamten Narkose mittels Wärmepad (37°C) vor Hypothermie geschützt. Die ausreichende Narkosetiefe wurde anhand der Parameter Bewusstlosigkeit des Tieres, Atemfrequenz und Toe-Pinch-Test engmaschig kontrolliert. Alle Eingriffe wurden unter sterilen Bedingungen mit Hilfe mikrochirurgischer Instrumente durchgeführt.

Gruppe 1 (7 Tiere) 8 Wochen Rekonvaleszenz	
A	2 Strang FiberWire®-Beugesehnennaht ohne Vlies. 3. Strahl
B	4 Strang FiberWire®-Beugesehnennaht ohne Vlies. 4. Strahl
Gruppe 2 (7 Tiere) 3 Wochen Rekonvaleszenz, 1 Tier gestorben	
A	2 Strang FiberWire®-Beugesehnennaht ohne Vlies. 3. Strahl
B	4 Strang FiberWire®-Beugesehnennaht ohne Vlies. 4. Strahl
Gruppe 3 (7 Tiere) 8 Wochen Rekonvaleszenz	
A	2 Strang FiberWire®-Beugesehnennaht mit Vlies. 3. Strahl
B	4 Strang FiberWire®-Beugesehnennaht mit Vlies. 4. Strahl
Gruppe 4 (7 Tiere) 3 Wochen Rekonvaleszenz,	
A	2 Strang FiberWire®-Beugesehnennaht mit Vlies. 3. Strahl
B	4 Strang FiberWire®-Beugesehnennaht mit Vlies. 4. Strahl

Tabelle 3.1: Gruppeneinteilung.

Das Tier wurde in Bauchlage gebracht und der rechte Hinterlauf rasiert und mit Octenisept® desinfiziert. Es erfolgte eine Inzision direkt über den Beugesehnen, die Sehnenscheiden zweier Strahlen wurden eröffnet. Am dritten Strahl erfolgte eine komplette Tenotomie der Beugesehne in Zone II unter Erhalt der Ringbänder. Dann wurde eine 2-Strang-Naht in modifizierter Kirchmayr-Kessler-Technik angefertigt. Am vierten Strahl des gleichen Hinterlaufs wurde ebenfalls die Beugesehne in Zone II unter Erhalt der Ringbänder komplett tenotomiert und mit einer 4-Strang-Naht versorgt. Es wurde Nahtmaterial der Firma Arthrex, FiberWire® 4-0/1,5 mit 3/8 gebogener, sich konisch verjüngender, atraumatischer Nadel verwendet. Die feinadaptierende fortlaufende Naht wurde mit 6-0 PDS der Firma Ethicon, mit 3/8 gebogener Nadel angelegt. Insgesamt wurden 56 Sehnen von 28 Kaninchen operiert.

Nach Fertigstellen der Beugesehnennaht wurde bei 14 Tieren zusätzlich das Kollagen-Elastin-Vlies zirkulär als Ummantelung um die Nahtstelle gelegt und mit wenigen Einzelknopfnähten (PDS 6-0) mit sich selbst vernäht. Der Verschluss der Sehnenscheide erfolgte als Einzelknopfnah (PDS 6-0). Abschließend wurde die Hautnaht mit 4-0 Prolene in Einzelknopfnah durchgeführt und mit Silbernitrat Wundspray versorgt.

Zum Abschluss der Operation wurde den Kaninchen Carprofen 5mg/kg KG subkutan als postoperatives Analgetikum verabreicht. Carprofen weist eine Wirkdauer von 12 bis 24 Stunden auf. Vom zweiten bis zum vierten postoperativen Tag wurden die

Kaninchen mit Novalgin® Tropfen im Trinkwasser versorgt. Die Tiere wurden regelmäßig durch die Versuchsdurchführenden und die Tierpfleger überwacht. Es erfolgte eine aktive Nachbehandlung, da die Kaninchen im Vorversuch den Gipsverband nicht tolerierten.

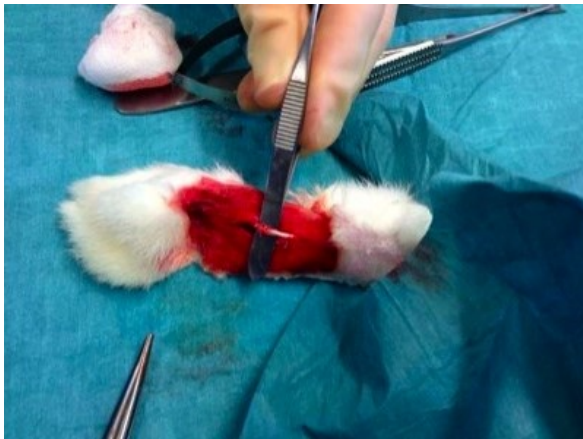


Abbildung 3.1: Hinterlauf mit Beugesehnnennaht ohne Matriderm®.



Abbildung 3.2: Hinterlauf mit Beugesehnnennaht und Matriderm®.

3.2 Untersuchungsmethoden

3.2.1 Passive Beweglichkeit und makroskopischer Befund

Die operierten dritten und vierten Zehen des rechten Hinterlaufes und 8 nicht operierte Hinterläufe wurden nachuntersucht. Nach Narkoseeinleitung durch eine intramuskuläre Injektion von Ketamin Hydrochlorid 35 mg/kg KG und Xylazin 5 mg/kg KG und anschließender Tötung der Tiere durch Phenobarbitalüberdosierung in einer Dosis von 120 mg/kg KG wurde das passive Bewegungsausmaß der distalen und proximalen Interphalangealgelenke der entsprechenden Zehen mit einem Goniometer gemessen.

Dann wurden die Sehnen durch eine Inzision über den Beugesehnen freigelegt und das Adhäsionsausmaß makroskopisch bewertet und in drei Grade nach Tang eingeteilt (22). Es erfolgte die Entnahme der Beugesehnen und die Fixierung in 4 % gepuffertem Formalin.

TANG	Makroskopisches Adhäsionsausmaß
1	Makroskopisch normales Gleitlager
2	Makroskopisch wenige Verklebungen
3	Zirkuläre Adhäsionen, makroskopisch sichtbar

Tabelle 3.2: Makroskopische Einteilung der Adhäsionen nach Tang.

Die Stabilität der Sehnennaht wurde evaluiert und ebenfalls in 3 Grade eingeteilt.

Grad	Distanz	Kriterium
0	Keine Distanz	Anliegende Sehnenenden
1	Minimale Distanz	Distanz ≤ 1 mm
2	Deutliche Distanz	Distanz ≥ 1 mm

Tabelle 3.3: Makroskopische Einteilung der Sehnendistanz.

3.2.2 Immunhistochemische und histologische Untersuchungen

Nach der Fixation erfolgte die Entwässerung und Einbettung in Paraffin (Merck 56-58°C) mit anschließenden 4 µm dünnen Schnitten am Rotationsmikrotom (Leica RM2145). Die Sehnen wurden dafür in ihrer longitudinalen Ebene geschnitten, sodass die Sehnen in ihrer vollen Länge auf den poly-L-Lysinbeschichteten Objektträgern lichtmikroskopisch evaluiert werden konnten.

3.2.2.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Schnitte wurden in absteigender Alkoholreihe entparaffiniert und anschließend für fünf Minuten in Hämalun Lösung (1:5) gegengefärbt, zehn Minuten gebläut und eine Minute in Eosin (0,5 %) gefärbt. Zum Eindeckeln (Deckgläser Menzel, Kleber X-TRA Medite Kit) erfolgte eine aufsteigende Alkohol-Reihe bis zum Xylol. Hämatoxylin hat die Eigenschaft, alle basophilen Strukturen und damit insbesondere Zellkerne aufgrund des hohen DNS Gehaltes blau zu färben. Hierdurch kann eine genauere Gewebezuordnung erfolgen und das Ausmaß einer Bindegewebsvermehrung rings

um die Sehne eingeschätzt werden.

Die auflichtmikroskopische (Olympus BX51) Auswertung erfolgte über die gesamte Länge.

3.2.2.2 CAE Histologie

Zur Kenntlichmachung der neutrophilen Granulozyten ab dem Stadium der Promyelocyten wurden die Schnittpräparate bis zu drei Stunden bei Zimmertemperatur inkubiert. Anschließend wurde 10 mg Echtgranatsalz (Fast Granat GBC Sigma F8761) in 100 ml PBS (Merck) und 16 mg Naphtol-AS-D-Chlorazetat (IEC) in 2 ml Dimethylsulfoxid (Merck) gelöst. Beide Lösungen wurden vermischt, geschüttelt, filtriert und die Präparate damit fließend gewässert. Nach einer Gegenfärbung mit Hämalaun wurden die Präparate mit Glyzeringelatine (Merck) eingedeckelt. CAE positive Zellen als Entzündungsmediatoren wurden zur Bestimmung der Entzündungsreaktion ausgezählt, um zeigen zu können, ob das Einbringen von 4 statt 2 Kernnähten und des Kollagen-Elastin-Vlies zu einer vermehrten Entzündungsreaktion führte. Die Auswertung erfolgte über eine Zellzählung von bis zu 50 Gesichtsfeldern (40er Objektiv, 10er Okular).

3.2.2.3 Alpha-SM-Aktin

Zur Darstellung der Myofibroblastenformation, also der extrazellulären Entzündung im Bindegewebe, wurden die Schnitte entparaffiniert und in der Mikrowelle bei einem pH-Wert von 6,0 mit Hilfe eines Mikrowellenpuffers (DAKO) sieben Minuten bei 700 Watt erhitzt. Hierdurch wurden die Eiweißvernetzungen des Formalins demaskiert. Nach dreimaligem Spülen wurden die Präparate fünf Minuten einem Peroxidaseblock (DAKO-S2023) ausgesetzt, nochmals dreimal gespült und 30 Minuten mit einem Proteinblock (DAKO-X0909) inkubiert. Über Nacht erfolgte die Inkubation mit dem Primär-Antikörper alpha-SMA 1:50 (AK Diluent DAKO-S3022) bei 4°C.

Am darauf folgenden Tag wurden die Schnitte auf Raumtemperatur gebracht, dreimal mit PBS gespült und mit dem Sekundär-Antikörper (goat anti mouse HRP DAKO P0447, 1:100) 30 Minuten bis eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert, anschließend dreimal gespült und mit Chromogen DAB (DAKO K3467 = 3,3'

diaminobenzidine in chromogen solution) weitere fünf Minuten inkubiert. Abschließend erfolgte eine Kernfärbung mit Hämalaun (Merck) über fünf und Bläuen über zehn Minuten. Die Auswertung erfolgte über das gesamte Sehnenpräparat.

3.2.3 Histologische Auswertung

Die histologische Auswertung erwies sich aufgrund der Heterogenität der Präparate als schwierig. Die Differenzierung zwischen Sehne und Peritendineum war in einigen Fällen schwer möglich. Jede Sehne wurde über ihre gesamte Länge untersucht und ausgewertet, um eine möglichst genaue Zuordnung der Gewebeanteile zu gewährleisten. Die Analyse erfolgte bei allen Färbungen unter 400-facher Vergrößerung, wobei zunächst mit Hilfe eines Mikrometermaßstabes die Größe des Gesichtsfeldes bestimmt wurde.

3.2.3.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Um das Adhäsionsausmaß zu bestimmen wurde die Dicke des peritendinösen Raumes bestimmt und in 5 Grade eingeteilt:

Grad 1	Keine Adhäsionen, erhaltener peritendinöser Raum
Grad 2	Minimale Adhäsionen, Peritendineum größtenteils erhalten
Grad 3	Moderate Adhäsionen, in ca. 50 % der Zirkumferenz Gleitgewebe erhalten
Grad 4	Schwere Adhäsionen, peritendinöser Raum in über 50 % der Sehnenzirkumferenz obliteriert
Grad 5	Komplett verklebte Sehne, kein peritendinöser Raum sichtbar

Tabelle 3.4: Mikroskopische Einteilung des Adhäsionsausmaßes nach Tang.

Die Einteilung erfolgte unter dreimaliger randomisierter und verblindeter Durchsicht der kompletten Präparate.

Bei Diskrepanz wurde das entsprechende Präparat nochmalig gesondert evaluiert und einem der Grade 1 bis 5 zugeordnet.

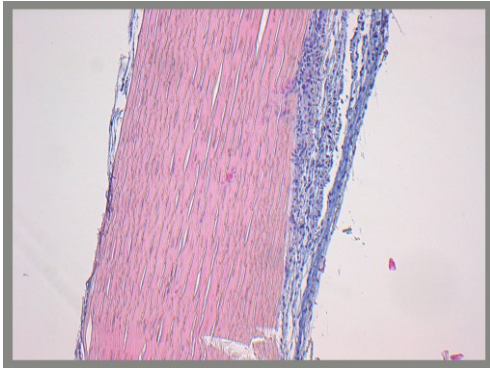


Abbildung 3.3: Sehne längs HE gesund.

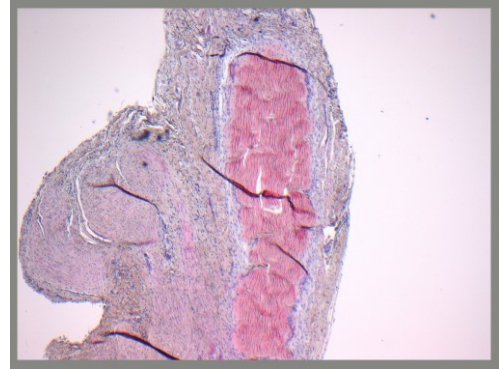


Abbildung 3.4: Sehne längs HE mit zirkulären Adhäsionen.

3.2.3.2 CAE Färbung

Zur Zellzählung von neutrophilen Granulozyten wurden bis zu 50 Gesichtsfelder mäanderförmig ausgezählt. Bei kleineren Präparaten waren 50 Gesichtsfelder nicht realisierbar, sodass für alle Präparate die Anzahl der gezählten Zellen mit der Anzahl der jeweiligen Gesichtsfelder dividiert wurde und damit die Zellzahl pro Gesichtsfeld bei 400-facher Vergrößerung ermittelt wurde. Die Zählung erfolgte randomisiert und verblindet.



Abbildung 3.5: CAE-Färbung einer gesunden Sehne.

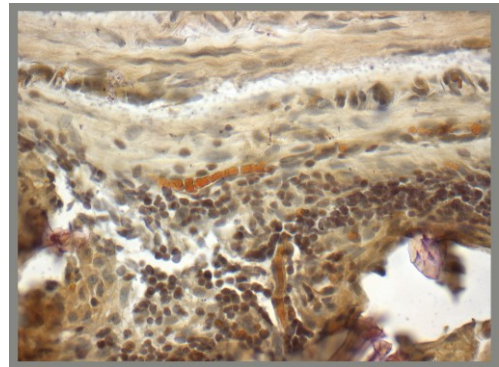


Abbildung 3.6: CAE Färbung mit deutlicher Invasion CAE-positiver.

3.2.3.3 Alpha-SM-Aktin

Zur Evaluation der extrazellulären Entzündung wurde ein Gitternetzokular bei 400-facher Vergrößerung benutzt und die Myofibroblastenformationen ausgemessen. Dazu wurden 5 Gesichtsfelder ausgezählt und ein Mittelwert gebildet, sodass die angegebenen Werte sich auf durchschnittliche mm^2 pro Gesichtsfeld beziehen. Auch hier erfolgte die Auswertung randomisiert und verblindet.

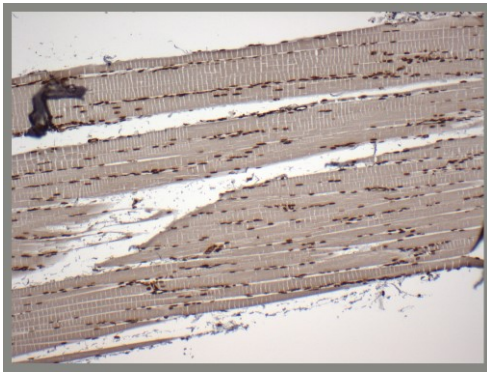


Abbildung 3.7: Alpha-SMA-Färbung einer gesunden Sehne.

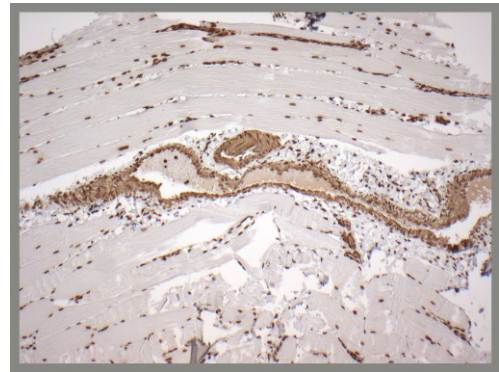


Abbildung 3.8: Alpha-SMA-Färbung mit deutlicher Myofibroblastenformation.

3.2.4 Statistische Analyse

Alle Werte wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung des Mittelwertes angegeben. Der Vergleich zwischen den Gruppen erfolgte mittels zweifaktorieller Varianzanalyse (two way analysis of variance (two-way-ANOVA)). Bei der Prüfung wurden Unterschiede mit $p < 0.05$ als signifikant, $p < 0.01$ als sehr signifikant und $p < 0.001$ als hoch signifikant angesehen. Die Varianzanalyse ist eine statistische Verfahrensklasse zur Analyse von Unterschieden in Gruppenmittelwerten. Es wird geprüft, wie bedeutsam der Einfluss der Variablen ist. Die Variabilität bzw. das partielle Eta-Quadrat ist ein Maß für die bemessene Effektstärke eines Faktors und beschreibt, wie viel Anteil ein Faktor auf die Veränderlichkeit des Ergebnisses hat. Sämtliche statistische Tests erfolgten unter Verwendung der Software SPSS 20 (IBM).

4. Ergebnisse

4.1 Allgemeine Beobachtungen

Bei Versuchstier 6 wurde präoperativ Durchfall und postoperativ ein Spritzenhämatom über der Scapula rechts beobachtet. Eine Beeinträchtigung der Wundheilung fand sich nicht. Versuchstier 8 zeigte ab dem ersten postoperativen Tag eine minimale Wunddehiszenz. Eine Revision wurde nicht notwendig. Das Versuchstier 15 wurde am ersten postoperativen Tag tot aufgefunden. Versuchstier 21 zeigte Streckkrämpfe während der Euthanasieeinleitung. Alle Versuchstiere wachten nach der Operation komplikationslos auf. Die Wunden heilten zeitgerecht und waren reizlos, trocken und ohne Zeichen einer lokalen Infektion.

4.2 Range of motion

Alle operierten Hinterläufe zeigten prä- und postoperativ bei der Sehnenentnahme passiv volle Beweglichkeit.

4.3 Sehnendistanz

Die Distanz zwischen den Sehnenenden wurde makroskopisch direkt nach operativer Freilegung der Sehne bestimmt. Einen deutlichen Einfluss auf die Distanzbildung wurde hinsichtlich der Nahttechnik gefunden. Das Ergebnis ist statistisch hoch signifikant. Das partielle Eta-Quadrat beträgt 0,216. Mit einer Effektstärke von 21,6 % beeinflusst die Nahttechnik maßgeblich die Lückenbildung zwischen den beiden Sehnenenden.

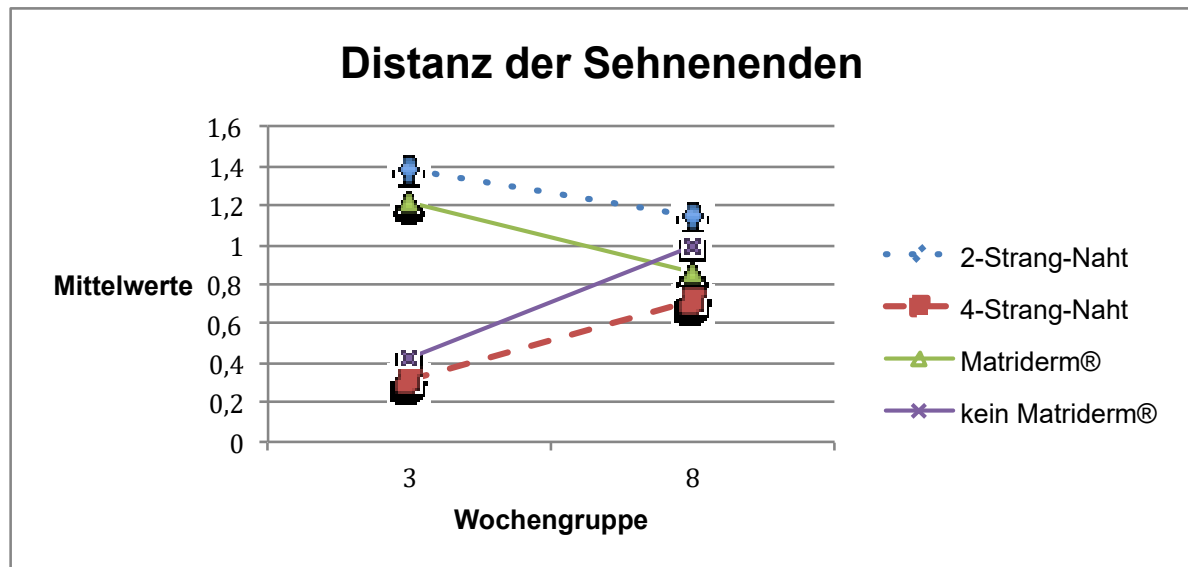


Abbildung 4.1: Distanz der Sehnenenden der Sehnenpräparate nach Behandlung mit 2-Strang-Naht, 4-Strang-Naht sowie mit Matriderm® und ohne Matriderm®. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte nach Einteilung in die Grade 0 bis 2.

Wochengruppe	Matriderm®	Naht	Mittelwert
3	Ohne	2-Strang	0,67
		4-Strang	0,17
		Gesamt	0,42
	Mit	2-Strang	2,00
		4-Strang	0,43
		Gesamt	1,21
	Gesamt	2-Strang	1,38
		4-Strang	0,31
		Gesamt	0,85
8	Ohne	2-Strang	1,14
		4-Strang	0,86
		Gesamt	1,00
	Mit	2-Strang	1,14
		4-Strang	0,57
		Gesamt	0,86
	Gesamt	2-Strang	1,14
		4-Strang	0,71
		Gesamt	0,93
Gesamt	Ohne	2-Strang	0,92
		4-Strang	0,54
		Gesamt	0,73
	Mit	2-Strang	1,57
		4-Strang	0,50
		Gesamt	1,04
	Gesamt	2-Strang	1,26
		4-Strang	0,52
		Gesamt	0,89

Tabelle 4.1: Errechnete Mittelwerte der Sehrendistanz nach Einteilung in die Grade 0 bis 2.

Eine Wechselwirkung zwischen dem Einsatz von Matriderm® und der Wochengruppen wurde mit einer Signifikanz von $p=0,027$ angegeben. Hier lassen immerhin 10,2 % der Variabilität auf eine Wechselwirkung zwischen den beiden Faktoren Woche und Matriderm® rückschließen. Matriderm®-ummantelte Sehnen weisen nach drei Wochen eine stärkere Distanzbildung als die Sehnen der Gruppe ohne Matriderm® auf. Nach 8 Wochen zeigen aber beide Gruppen vergleichbare Ergebnisse.

Das Einbringen von vier statt zwei Kernnähten führt zu kleineren Distanzen zwischen den beiden Sehnenenden und hat damit einen positiven Einfluss auf die Sehnenheilung.

4.4 Makroskopisches Adhäsionsausmaß

Die makroskopische Bestimmung des Adhäsionsausmaßes erfolgte direkt nach operativer Freilegung der zu entnehmenden Sehne.

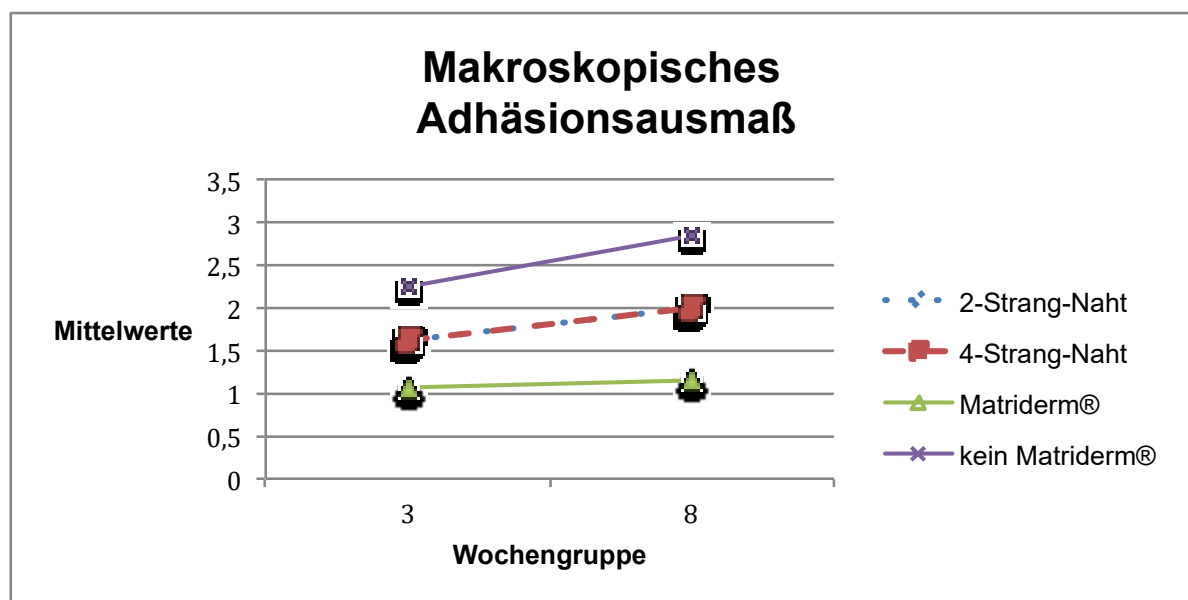


Abbildung 4.2: Makroskopisches Adhäsionsausmaß der Sehnenpräparate nach Behandlung mit 2-Strang-Naht, 4-Strang-Naht sowie mit Matriderm® und ohne Matriderm®. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte nach Einteilung in die Grade 1 bis 3.

Hoch signifikante Unterschiede konnten innerhalb der Matridermgruppen gefunden werden. Eine Ummantelung mit der Kollagen-Elastin-Matrix führte makroskopisch zu

besseren Ergebnissen im Vergleich zu der Gruppe ohne Matriderm®-Einlage. Die ermittelte Effektstärke beträgt 66,1 % (partielles Eta-Quadrat 0,661).

Signifikante Unterschiede wurden auch hinsichtlich der Rekonvaleszenz errechnet (Mittelwerte 3 Wochengruppe / 8 Wochengruppe: 1,62 zu 2,0). Makroskopisch bildeten sich nach 8 Wochen mehr Adhäsionen als nach drei Wochen. Hier errechnet sich ein Einfluss auf die Variabilität des Adhäsionsausmaßes von 9,7 %.

Wochengruppe	Matriderm®	Naht	Mittelwert
3	Ohne	2-Strang	2,17
		4-Strang	2,33
		Gesamt	2,25
	Mit	2-Strang	1,14
		4-Strang	1,00
		Gesamt	1,07
	Gesamt	2-Strang	1,62
		4-Strang	1,62
		Gesamt	1,62
8	Ohne	2-Strang	2,86
		4-Strang	2,86
		Gesamt	2,86
	Mit	2-Strang	1,14
		4-Strang	1,14
		Gesamt	1,14
	Gesamt	2-Strang	2,00
		4-Strang	2,00
		Gesamt	2,00
Gesamt	Ohne	2-Strang	2,54
		4-Strang	2,62
		Gesamt	2,58
	Mit	2-Strang	1,14
		4-Strang	1,07
		Gesamt	1,11
	Gesamt	2-Strang	1,81
		4-Strang	1,81
		Gesamt	1,81

Tabelle 4.2: Errechnete Mittelwerte des makroskopischen Adhäsionsausmaßes nach Einteilung in die Grade 1 bis 3.

4.5 Mikroskopisches Adhäsionsausmaß

Mit Hilfe der Hämatoxylin-Eosin-Färbung wurde lichtmikroskopisch das Adhäsionsausmaß bestimmt.

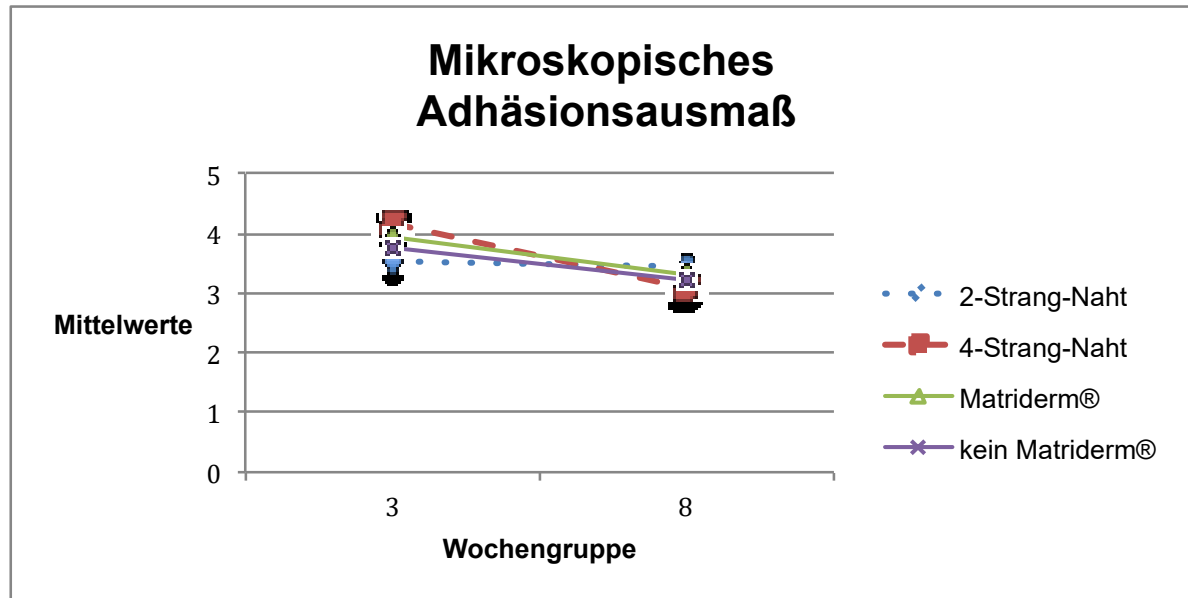


Abbildung 4.3: Mikroskopisches Adhäsionsausmaß der Sehnenpräparate nach Behandlung mit 2-Strang-Naht, 4-Strang-Naht sowie mit Matriderm® und ohne Matriderm®. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte nach Einteilung in die Grade 1 bis 5.

Die Auswertung ergab keine signifikanten Unterschiede innerhalb der einzelnen Gruppen.

Mit $p=0,054$ liegt der Faktor der Wochenanzahl knapp oberhalb der 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit. Es kann eine Tendenz zu besseren Ergebnissen nach 8-wöchiger Heilungsperiode gefunden werden.

Ein Einfluss von Matriderm® und Kernnahtzahl als einzelne Faktoren auf das mikroskopische Adhäsionsausmaß konnte nicht statistisch signifikant nachgewiesen werden.

Wochengruppe	Matriderm®	Naht	Mittelwert
3	Ohne	2-Strang	3,17
		4-Strang	4,33
		Gesamt	3,75
	Mit	2-Strang	3,86
		4-Strang	4,00
		Gesamt	3,93
	Gesamt	2-Strang	3,54
		4-Strang	4,15
		Gesamt	3,85
8	Ohne	2-Strang	3,00
		4-Strang	3,43
		Gesamt	3,21
	Mit	2-Strang	3,86
		4-Strang	2,71
		Gesamt	3,29
	Gesamt	2-Strang	3,43
		4-Strang	3,07
		Gesamt	3,25
Gesamt	Ohne	2-Strang	3,08
		4-Strang	3,85
		Gesamt	3,46
	Mit	2-Strang	3,86
		4-Strang	3,36
		Gesamt	3,61
	Gesamt	2-Strang	3,48
		4-Strang	3,59
		Gesamt	3,54

Tabelle 4.3: Errechnete Mittelwerte des mikroskopischen Adhäsionsausmaßes nach Einteilung in die Grade 1 bis 5.

4.6 Leukozyteninfiltration

Die inflammatorische Gewebereaktion wurde durch Färbung der Leukozyten mittels Chloracetatesterase nachgewiesen. Mit Hilfe dieser Färbung gelingt der Nachweis von Granulozyten vom frühen Promyelozyten bis zum reifen Neutrophilen.

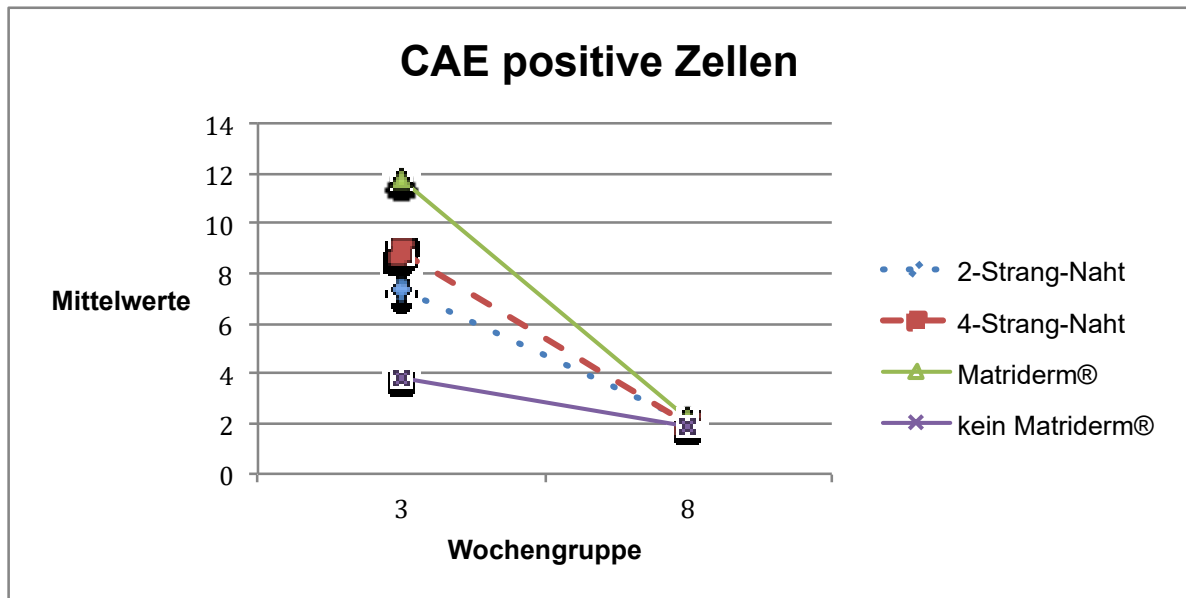


Abbildung 4.4: Anzahl der Leukozyten (n/mm²) der Sehnenpräparate nach Behandlung mit 2-Strang-Naht, 4-Strang-Naht, sowie mit Matriderm® und ohne Matriderm®. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte.

Die Zellzählung ergab hoch signifikante Ergebnisse bezüglich der Wochengruppen, sehr signifikante hinsichtlich des Faktors Matriderm® und signifikante hinsichtlich der Wechselwirkungen von Wochenanzahl und Matriderm®. Eine längere Rekonvaleszenz geht mit einem Abfall der Entzündungszellinfiltration in allen Gruppen einher. 23,8 % der Variabilität lassen sich durch den Faktor Woche erklären. Matriderm® verursacht eine vermehrte Infiltration von Entzündungszellen; vergleicht man jedoch die Mittelwerte nach 8 Wochen von der Matriderm®-Gruppe (2,04) mit der Gruppe ohne Matriderm® (1,90) zeigt sich lediglich ein Unterschied von 0,14. Mit einer Effektstärke von 13,5 % ist Matriderm® nicht unwesentlich an einer stärkeren Infiltration CAE-positiver Zellen beteiligt.

Der starke Abfall der Entzündungszellen auf ein vergleichbares Niveau zu der Gruppe, die ohne Matriderm® behandelt wurde, lässt auf eine stärkere Kinetik schließen und es ergibt sich eine Effektstärke von 11,9 % durch die Wechselwirkung Heilungsdauer und Matriderm®.

Im Mittel zeigte sich eine erhöhte Zellzahl in den mit 4-Strang-Naht versorgten Gruppen. Jedoch war der Unterschied zwischen den Zellzahlen bei 4-Strang- und 2-Strang-Naht nicht signifikant. Die Werte sind in Tabelle 4.4 dargestellt.

Wochengruppe	Matriderm®	Naht	Mittelwert
3	Ohne	2-Strang	3,39
		4-Strang	4,37
		Gesamt	3,88
	Mit	2-Strang	10,73
		4-Strang	12,80
		Gesamt	11,76
	Gesamt	2-Strang	7,34
		4-Strang	8,91
		Gesamt	8,13
8	Ohne	2-Strang	1,79
		4-Strang	2,02
		Gesamt	1,90
	Mit	2-Strang	2,48
		4-Strang	1,88
		Gesamt	2,18
	Gesamt	2-Strang	2,13
		4-Strang	1,95
		Gesamt	2,04
Gesamt	Ohne	2-Strang	2,5
		4-Strang	3,11
		Gesamt	2,82
	Mit	2-Strang	6,60
		4-Strang	7,34
		Gesamt	6,97
	Gesamt	2-Strang	4,64
		4-Strang	5,30
		Gesamt	4,97

Tabelle 4.4: Errechnete Mittelwerte CAE-positiver Zellen (n/mm²).

4.7 Myofibroblastenformation

Zur Kenntlichmachung der im extrazellulären Gewebe stattfindenden Entzündung, wurde alpha smooth muscle actin immunhistochemisch angefärbt und anschließend die Myofibroblastenformation quantitativ bestimmt.

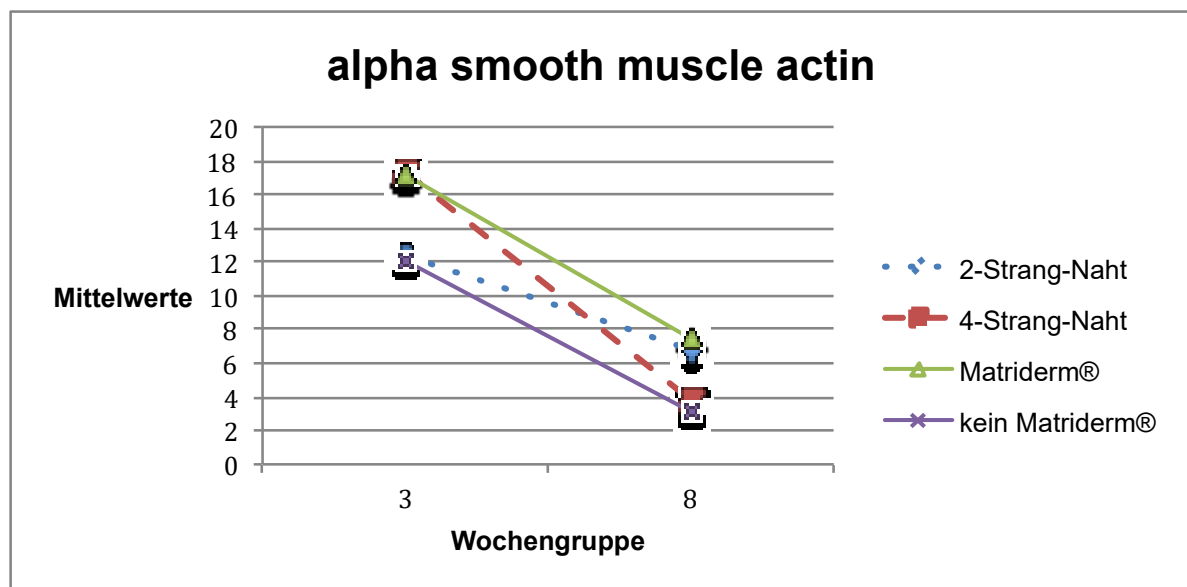


Abbildung 4.5: Anzahl der Myofibroblastenformationen (n/mm²) der Sehnenpräparate nach Behandlung mit 2-Strang-Naht, 4-Strang-Naht sowie mit Matriderm® und ohne Matriderm®. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte.

Hoch signifikanter Einfluss wurde für den Faktor Wochengruppe und sehr signifikanter für Matriderm® Ummantelung evaluiert. Es hat sich gezeigt, dass die Expression von α -SMA in allen Gruppen mit der Zeit abnimmt. Das partielle Eta-Quadrat beträgt für den Faktor Woche 42,3 %. Der zeitliche Verlauf scheint deutlich in Bezug zur Myofibroblastenaktivierung zu stehen. Matriderm® scheint eine stärkere Aktivierung der Fibroblastendifferenzierung zu bewirken. Die Wechselwirkung der Faktoren Naht und Woche ergaben signifikante Werte: Die Behandlung mit vier Kernnähten geht mit erhöhter Myofibroblastenformation einher, ähnlich wie dies in der Matriderm® Gruppe der Fall war, und sinkt nach 8 Wochen auf Werte unterhalb der 2-Strang-Gruppe ab. Diese scheinen eine deutlich schwächere Fibroblastenaktivierung auszulösen. Das partielle Eta-Quadrat beträgt für den Faktor Woche 42,3 %, für den Faktor Matriderm® 15,5 % und hinsichtlich der Wechselwirkungen der Faktoren Woche und Naht 10,7 %.

Wochengruppe	Matriderm®	Naht	Mittelwert
3	Ohne	2-Strang	11,40
		4-Strang	12,87
		Gesamt	12,13
	Mit	2-Strang	13,29
		4-Strang	21,06
		Gesamt	17,17
	Gesamt	2-Strang	12,41
		4-Strang	17,28
		Gesamt	14,85
8	Ohne	2-Strang	4,17
		4-Strang	2,03
		Gesamt	3,10
	Mit	2-Strang	9,34
		4-Strang	5,57
		Gesamt	7,46
	Gesamt	2-Strang	6,76
		4-Strang	3,80
		Gesamt	5,28
Gesamt	Ohne	2-Strang	7,51
		4-Strang	7,03
		Gesamt	7,27
	Mit	2-Strang	11,31
		4-Strang	13,31
		Gesamt	12,31
	Gesamt	2-Strang	9,48
		4-Strang	10,29
		Gesamt	9,89

Tabelle 4.5: Errechnete Mittelwerte der Myofibroblastenformationen (n/mm²).

5. Diskussion

5.1 Diskussion von Material und Methode

5.1.1 Etablierte Modelle zur Untersuchung der Sehnenheilung

Um mehr Kenntnisse zu Regenerationsmechanismen und deren Beeinflussung nach Sehnentraumata zu erlangen, ist es notwendig, experimentelle Modelle zu etablieren, die Sehnentraumata simulieren und weiterführende Untersuchungen zur Objektivierbarkeit durchzuführen. Dazu gehören in-vitro, humane in-vivo und tierexperimentelle in-vivo Modelle.

5.1.1.1 In-vitro Sehnentraumamodelle

Zur Untersuchung von möglichen Einflussfaktoren der Sehnenheilung und deren positiver Beeinflussung existieren verschiedene in-vitro Modelle. Beispielsweise wird die entnommene Sehne zwischen zwei Klemmen gespannt und zur Bestimmung der Ermüdungslast in eine servohydraulische Maschine gespannt (23). Die damit auf die Sehne einwirkende Zugspannung wird so lange erhöht, bis die Sehne entweder reißt, oder eine Distanz zwischen zwei Sehnenenden nach einer zuvor erfolgten Sehnennaht entsteht.

Die aufzuwendende Kraft, um den gewünschten Effekt zu erzielen, ist ein Maß für die Zugfestigkeit einer Sehne bzw. einer Sehnennaht. Diese Methode wird oft benutzt, um die Stabilität von verschiedenen Nahttechniken und Nahtmaterialien miteinander zu vergleichen und erlaubt zudem eine anschließende histologische Aufarbeitung des Materials (24). Andere in-vitro Ansätze bestehen darin, Tenozyten von humanen gesunden und rupturierten Sehnen zu extrahieren und in eine Kultur zu bringen. Mit Hilfe einer Pipette kann ein Mikrotrauma simuliert werden, indem damit über die Zellkultur gekratzt wird. Die unterschiedliche Reaktion auf diesen Stimulus zwischen Tenozyten aus gesunden Sehnen und denen von rupturierten Sehnen kann anhand der unterschiedlichen Expression von Extrazellulärmatrix bestimmt werden (17).

Nachteil dieser Methoden sind, dass sie technisch anspruchsvolle Experimente darstellen und für die klinische Medizin nur eingeschränkt verwertbare Informationen liefern.

5.1.1.2 Humane Sehnentraumamodelle

Induzierte Sehnenverletzungen am Menschen werden aus ethischen Aspekten kaum durchgeführt. Ziel von Studien am Menschen ist es derzeit vorrangig, bereits stattgefundene Verletzungen zu therapieren und die Ergebnisse der verschiedenen Therapieoptionen miteinander zu vergleichen. Einen Ansatz stellt die Applikation von Hyaluron in die Sehnenscheide nach bereits erfolgter Tenolyse dar (25). Nachteil dieser Methode ist, dass nur eingeschränkte Nachuntersuchungsmöglichkeiten bestehen. Eine histologische Aufarbeitung ist methodenbedingt nicht möglich.

5.1.1.3 Tierexperimentelle Sehnentraumamodelle

Einen großen Anteil zur Erforschung pathophysiologischer Vorgänge der Sehnenheilung haben tierexperimentelle Studien. Aktuelle Veröffentlichungen bearbeiteten die Thematik mit Hilfe unterschiedlicher Spezies wie Ratten (26), Mäusen (27), Schweinen (28), Hühnern (29) und Kaninchen (19).

Zur Traumainduktion haben sich zwei Modelle durchgesetzt: Die vollständige Durchtrennung der Sehne (21) oder eine Inzision, die nur eine inkomplette Durchtrennung zur Folge hat (27). Ab einer Durchtrennung von 50 % der Zirkumferenz einer Sehne wird im klinischen Bereich eine Sehnennaht in der Regel durchgeführt (5). Eine Beurteilung der Schnitttiefe ist präoperativ nicht immer möglich, sodass oft schon bei Verdacht auf eine Sehnenbeteiligung ein operatives Vorgehen erwogen werden muss. Deshalb spielt eine partielle Durchtrennung der Sehne mit konservativer Behandlung klinisch eine untergeordnete Rolle, sodass im experimentellen Tiermodell überwiegend eine komplette Durchtrennung der Sehne mit anschließender Sehnennaht Fokus aktueller Forschung ist.

5.1.2 Sehnentraumainduktion mittels operativer Durchtrennung

Die meisten Sehnenverletzungen sind Schnittverletzungen durch Messer und andere scharfe Gegenstände. Das hier angewandte experimentelle Verfahren erlaubt die Simulation einer scharfen Durchtrennung einer Beugesehne mit anschließender operativer Versorgung. Die Traumaintensität und der Schweregrad der Verletzung können dabei bei allen Versuchen konstant gehalten werden. Es handelt sich um ein etabliertes Modell, welches bei unterschiedlichen Spezies zur Anwendung kommt.

5.1.3 Das Kaninchen als Versuchstier

Das Kaninchen ist ein häufig benutztes Versuchstier zur Erforschung von Beugesehnenverletzungen (20), Tendinopathien (30), Verletzungen der Rotatorenmanschette und Patellarsehne (31-32).

Aufgrund der Größe, des schnellen Wachstums und der guten Handhabbarkeit ist es ein etabliertes Modelltier zur Untersuchung von unfallchirurgischen und orthopädischen Fragestellungen. Für die Untersuchung von Beugesehnenverletzungen werden überwiegend die Sehnen der Hinterläufe, insbesondere die der Mm. flexor digitorum profundus herangezogen, die sich wegen sich ähnelnden anatomischen Verhältnissen gut eignen (19).

5.1.4 Anwendung von Matriderm®

Mehrere Studien haben gezeigt, dass Matriderm® eine Alternative bei der Behandlung von Vollhautdefekten darstellt. Die Kombination mit Spalthaut ermöglicht es, freiliegende Sehnen, Knochen und Gelenke ohne aufwändige Lappenplastik in einem Operationsschritt zu decken. Dabei ersetzt die Kollagen-Elastin-Schicht die fehlende Hautkomponente, bildet also die Verschiebeschicht unter der Epidermis. Dazu muss zunächst die Wunde gereinigt und eine gute Vaskularisation geschaffen werden. Anschließend kann das Kollagen-Elastin-Vlies nass oder trocken auf das betroffene Areal gelegt werden und überstehendes Vlies auf den zu deckenden Bereich zugeschnitten werden. Im darauf folgenden Schritt erfolgt die Anlage des Spalthauttransplantats, wobei ein direkter Kontakt von Spalthaut und Matriderm® erforderlich ist. Spalthaut und Matriderm® werden mit dem Wundrand vernäht und

anschließend steril verbunden. Aufgrund der empfindlichen Beschaffenheit des Transplantats sollte der Verband nicht vor 5 Tagen gewechselt werden.

Klinische Studien haben das Vlies erfolgreich in der Behandlung von Verbrennungen mit Strom (33) und Feuer (34), sowie Weichteildefekten vaskulärer, neoplastischer, posttraumatischer (35) oder infektiöser Genese (36) eingesetzt. Zur Evaluation der Operationsergebnisse wurden der Heilungsprozess, die Heilungsdauer und die Beweglichkeit der betroffenen Körperteile bestimmt.

5.1.5 Anwendung von FiberWire®

Die Anforderungen an das Nahtmaterial sind bei Sehnennähten besonders hoch: Der Faden muss einfach zu kneten sein, eine hohe Zugfestigkeit aufweisen, nur eine geringe Gewebereaktion auslösen und fest im eingebrachten Gewebe sitzen. Darüber hinaus sollte der Faden nicht dehnbar sein, da es sonst zu einer Lückenbildung zwischen den beiden Sehnenenden kommen kann, einer häufigen Komplikation bei Sehnennähten (37). FiberWire® ist ein gern eingesetztes Material bei Beugesehnennähten und besteht aus einem mehrsträngigen, langkettigen Kern aus ultrahochmolekulargewichtigem Polyethylen und einer geflochtenen Hülle aus Polyester und Polyethylen. Es ist das stärkste Nahtmaterial, sofern mehrere Knoten möglich sind (9). Ein Versagen der Sehnennaht mit FiberWire® kommt in der Regel nicht durch ein Zerreißen des Materials zustande, sondern durch sich lösende Knoten (38). Die schwächere Knotenfestigkeit bedingt somit eine höhere Knotenanzahl, um einen Gewinn der maximal möglichen Zugstärke zu erreichen (39).

5.1.6 Anwendung der modifizierten Sehnennaht nach Kirchmayr-Kessler

Die modifizierte Naht nach Kirchmayr-Kessler ist eine etablierte Nahttechnik in der Beugesehnenchirurgie und findet vielfach Anwendung im klinischen und experimentellen Bereich.

Das Ergebnis einer Sehnennaht hängt stark von dem eingebrachten Material und von der angewendeten Technik ab. Der Abstand der Verankerung einer Kernnaht

von der Durchtrennungsstelle hat großen Einfluss auf deren Belastbarkeit. So liegt der optimale Abstand zwischen 0,7 und 1 cm von der Durchtrennungsstelle entfernt. Abstände von 0,4 cm und weniger resultieren in signifikant schwächeren Kernnähten. Ein Auseinanderweichen der beiden Sehnenenden mit dem Ergebnis einer Lückenbildung kann die Folge sein. Umgekehrt führt eine Erhöhung des Abstandes über 1 cm nicht zwangsläufig zu belastbareren Sehnennähten (28). Die Sehnennahtschlaufen können unterschlungen und nicht unterschlungen angefertigt werden. Dabei weisen unterschlungene Sehnennahtschlaufen eine höhere Stabilität auf: Ein geringeres Auseinanderweichen der Sehnenenden konnte beobachtet werden (40).

Das Einbringen von mehr als zwei Strängen in der Kernnaht scheint nicht notwendigerweise in einer vermehrten Bildung von Adhäsionen zu resultieren. Auch der Gleitwiderstand verringert sich nicht signifikant durch eine 4-Strang-Naht (41-42). Eine stärkere Naht mit einer höheren Zugfestigkeit kann durch eine höhere Anzahl an Strängen erreicht werden (40,20). Die Kombination der verschiedenen Nahttechniken mit den verschiedenen Nahtmaterialien können ebenfalls Einfluss auf die Stabilität haben: Anfertigung von mehreren Sehnennahtschlaufen, mehrfaches Unterschlingen, die verwendete Kernnahttechnik bis hin zum Material können sich untereinander beeinflussen (8,38).

5.1.7 Gruppen und Zeitpunkte der Untersuchung

Ziel dieses Modells war es, die pathophysiologischen Veränderungen der 2-Strang Gruppe mit der 4-Strang Gruppe sowie mit und ohne Kollagen-Elastin-Vlies zu vergleichen. In dieser experimentellen Studie wurden die Untersuchungszeitpunkte so gewählt, dass die Frühphase und die Spätphase der Sehnenheilung beurteilt werden können. Mit Hilfe von zwei Untersuchungszeitpunkten kann eine Dynamik der Gewebereaktion dargestellt werden.

Zur Einsichtnahme in die Frühphase wurde ein Zeitpunkt von 3 Wochen, für die Spätphase von 8 Wochen gewählt.

Andere Studien führten die Sehnenentnahme ebenfalls nach 3, (29) 6 oder 12 Wochen (43) zur Beurteilung durch.

Untersuchungen haben gezeigt, dass die Leukozyteninfiltration in den ersten 3 postoperativen Tagen den Höchststand erreicht, um dann nach drei Wochen auf etwa ein Drittel des Ausgangswertes abzufallen. Nach weiteren 5 Wochen hat sich dieser Wert erneut halbiert, sodass auch in dieser Arbeit von einer Reduktion der Leukozyteninfiltration auszugehen war.

Beobachtet man die Myofibroblastenaktivität, so ist aus vorangegangenen Arbeiten ein Anstieg der Myofibroblasten von ca. 15 % zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten zu erwarten (27).

5.1.8 Immobilisation versus Mobilisation

Beim Menschen sieht die aktuelle Nachbehandlung eine Ruhigstellung mit gezielter Mobilisation unter Teilbelastung durch Beüben der betroffenen Extremität vor. Allerdings beobachtet man in den letzten Jahren einen Paradigmenwechsel. In aktuellen Veröffentlichung wird die aktive Nachbehandlung ohne Schienenruhigstellung immer häufiger propagiert (44). In diesem experimentellen Modell wurde in der Vorversuchsphase eine Ruhigstellung mit Hilfe eines Verbandes versucht. Die Gipsverbände wurden von den Tieren nicht toleriert und bereits innerhalb weniger Stunden nach Narkoseende durch Nagen zerstört.

Untersuchungen haben gezeigt, dass Immobilisation zu mehr Adhäsionen führen kann (27) und dass unbelastete Sehnen eine herabgesetzte Spannungstärke aufweisen (11). Dass eine Untersuchung der Ausbildung postoperativer Adhäsionen auch dann möglich ist, wenn keine Immobilisation stattfinden kann, zeigen früheren Arbeiten an Kaninchen (19) und an Ratten (45).

5.1.9 Diskussion der Untersuchungstechniken

5.1.9.1 Bewegungsausmaß

Zur Standarduntersuchung bei Sehnenverletzungen gehört klinisch und experimentell die Beurteilung des Bewegungsausmaßes. Dazu werden mit dem Gelenk die maximale Flexion und Extension aus der Neutralstellung durchgeführt und die erreichten Winkelgrade mit Hilfe eines Goniometers gemessen. Gleitwiderstände können auf diese Weise einfach und schnell erfasst werden und

liefern erste Hinweise über eine mögliche Beeinträchtigung des Sehnenapparates. Bei einer Dorsalextension von 80° und einer Palmarflexion von 90° ist von einem unauffälligem Bewegungsumfang des Gelenkes beim Kaninchen auszugehen. Bei den Versuchstieren in diesem Modell konnten keine Bewegungseinschränkungen festgestellt werden. Diese Untersuchungsmöglichkeit erlaubt nur eine grobe Orientierung über die Funktionsfähigkeit der Extremität. Rückschlüsse über das Ausmaß von Adhäsionen, ein Ausreißen der Sehnennähte, Entzündungen und andere feingewebliche Veränderungen können damit kaum getroffen werden, da es sich auch nur um passiv erhobene Bewegungsausmaße in Narkose handelt.

5.1.9.2 Sehnendistanz

Zur Beurteilung der Stabilität der Sehnennaht wurde ein einfaches und schnelles Verfahren gewählt. Aufgrund der guten Datenlage darüber, dass das Einbringen von mehr Kernnähten auch zu stabileren Ergebnissen führt, sollte das hier angewandte Verfahren lediglich zur Kontrolle der eigenen Sehnennähte und zur Bestätigung der bisher veröffentlichten Ergebnisse führen. Ein Ziel dieser Arbeit war es, Hinweise zu finden, ob eine Verdopplung der Kernnähte zu mehr Adhäsionen führt. Eine mechanische Testung würde zur Beschädigung des Präparates führen und dieses unbrauchbar für weitere Untersuchungen hinsichtlich der Bildung von Adhäsionen machen.

5.1.9.3 Adhäsionsausmaß

Als ein vergleichbarer und reproduzierbarer Bewertungsmaßstab für die Bildung von Adhäsionen hat sich die Einteilung nach Tang bewährt. Dabei werden die Sehnen bei der Entnahme auf makroskopisch sichtbare Adhäsionen sowie die Länge und das Ausmaß derer untersucht und in drei Grade nach Tang eingeteilt (22).

Zur genaueren Bestimmung, ob und in welchem Maß Gewebereaktionen stattgefunden haben, die zur Ausbildung von Verklebungen geführt haben, ist es notwendig die Sehne nach histologischer Aufarbeitung lichtmikroskopisch zu untersuchen.

Adhäsionen bilden sich, wenn die Synovial-Schicht der Sehnenscheide durch ein Trauma oder eine Operation keine Barriere mehr für Granulationsgewebe und Tenozyten des umliegenden Gewebes darstellt und diese in die Verletzungszone eindringen. Dominiert diese extrinsische Aktivität gegenüber den intrinsischen Stimuli der Tenozyten des Epitenoniums und Endotenoniums, kommt es zu Verklebungen der Sehne mit der Sehnenscheide und dem angrenzenden Gewebe. Welche der beiden Arten der Sehnenheilung dominiert, ist von verschiedenen Faktoren abhängig: Lokalisation des Traumas, die Schwere der Verletzung und die Wahl des postoperativen Rehabilitationsmodells können einen großen Einfluss haben. Ziel ist es, die intrinsische Sehnenheilung zu fördern, um bessere Ergebnisse mit weniger Komplikationen zu erhalten (1).

Eine einfache Methode zur Unterscheidung von Sehne und Peritendineum stellt die Hämatoxylin-Eosin-Färbung vor. Mit Hilfe dieser Färbung werden Zellkerne blau und Zytoplasma sowie Kollagenfasern rot dargestellt. Die Sehne selbst wird dadurch kräftig rot angefärbt und ist von dem blasserem umliegenden Gewebe gut abzugrenzen.

5.1.9.4 Entzündungsreaktion

Entzündungsreaktionen spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Adhäsionen und haben einen großen Einfluss auf das Operationsergebnis. Durch ein Trauma induziert kommt es immer zu mehr oder weniger ausgeprägten immunologischen Reaktionen des Organismus. Der Kontakt oder das Einbringen von Fremdmaterialien kann je nach Beschaffenheit, Zusammensetzung oder Kontamination mit Erregern vom Organismus in unterschiedlichem Ausmaß das Einwandern von Entzündungszellen triggern.

Die unspezifische bzw. angeborene Immunität erkennt Fremdstoffe an häufig vorkommenden Oberflächenstrukturen und ist in der Lage, ohne vorherige Aktivierung eine erste Immunreaktion auszulösen. Zu diesem System gehören Zellen wie Monozyten, Makrophagen, Granulozyten, natürliche Killerzellen und gelöste (humorale) Stoffe wie das Komplementsystem, die Akute-Phase-Proteine und die Interferone.

Alle Zellen der unspezifischen Abwehr leiten sich von pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen ab, die sich in lymphatische oder myeloische Vorläuferzellen weiterdifferenzieren. Aus letzterer gehen unter Beteiligung unterschiedlicher Wachstumsfaktoren Zellen der unspezifischen Abwehr hervor. Unmittelbar nach Eindringen eines Fremdstoffes werden diese Zellen aktiv, was unter anderem zur Produktion bestimmter Zytokine führt. TNF- α , IL-1 und IL-6 sind die wichtigsten Zytokine der frühen Abwehr und der Entzündung. Sie wirken chemotaktisch auf Leukozyten und können in höheren Konzentrationen systemische Effekte hervorrufen. Hauptproduktionsort von TNF- α , IL-1 und IL-6 sind Monozyten und Makrophagen. Werden diese Zytokine in geringen Mengen gebildet, kommt es zur Entstehung einer lokalen Entzündung. Ziel dieser Entzündung ist die Rekrutierung von Leukozyten in das Gewebe. IL-10 wird von aktivierten Makrophagen gebildet, wirkt auf diese hemmend und dient damit der Kontrolle der unspezifischen Abwehr. TGF- β wird ebenfalls von Makrophagen sowie von Monozyten und Antigen-aktivierten T-Zellen gebildet. Auch TGF- β ist ein hemmendes Zytokin, jedoch auf die Aktivierung der spezifischen Immunreaktionen (16). IL-1 fördert Entzündung und Verfall der Extrazellulärmatrix (46), IL-6 inhibiert die Fibroblastenproliferation (47) und führt bei vollständigem Fehlen zu schlechteren mechanischen Eigenschaften im Heilungsverlauf von verletzten Sehnen (48). IL-1, TNF- α und IL-10 hemmen die Synthese von Kollagen Typ I, wohingegen IL-4 die Freisetzung von Kollagen Typ I und III fördert (1). Darüber hinaus scheint TNF- α einen stark fördernden Einfluss auf die Elastinfreisetzung und die Tenozytenaktivierung zu haben, welche im Sinne einer positiven Rückkopplung selbst angeregt werden, TNF- α und andere regulatorische Zytokine wie IL-1, IL-6 und IL-10 zu exprimieren (46).

Mit Hilfe der Chloracetatesterase Färbung gelingt es, Granulozyten ab einem frühen Differenzierungsstadium (Promyelozytenstadium) kenntlich zu machen, sodass fast alle Zellen der myeloischen Zellreihe erfasst werden können (49). Damit ist es möglich, Rückschlüsse auf das Ausmaß einer Entzündung zu ziehen. Es wird davon ausgegangen, dass eine hohe Anzahl CAE-positiver Zellen mit erhöhter Entzündungsaktivität einhergeht (50). Aufgrund der beschriebenen Zytokinfreisetzung durch die Zellen der unspezifischen Immunantwort wird angenommen, dass mehr Entzündungszellinfiltrat zum Überwiegen der extrinsischen Heilung und damit zu vermehrter Bildung von Adhäsionen führt. Ebenfalls können

Rückschlüsse gezogen werden ob und wie stark das Einbringen der verwendeten Materialien entzündliche Prozesse fördert.

Eine vermehrte Zytokinfreisetzung kann eine Differenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten begünstigen (51). TGF- β und IL-4 scheinen hierbei mit FGF (Fibroblast growth factor) in Wechselwirkung zu stehen und eine besondere Rolle einzunehmen. Die Anwesenheit von TGF- β 1 oder IL-4 induziert die Differenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten. Diese Differenzierung wird in Anwesenheit von FGF gehemmt, sodass davon auszugehen ist, dass eine bestimmte Balance zwischen den beteiligten Zytokinen in der Beeinflussung der Fibroblastenfunktion eine wichtige Rolle einnimmt (52). Myofibroblasten sind spindelige Zellen, die α -SMA sowie perizelluläre und extrazelluläre Matrix in großen Mengen sezernieren. Eine vermehrte Expression von α -SMA führt zu einer vermehrten Bildung von Fibrose (53). Es ist daher anzunehmen, dass eine vermehrte Bildung von α -SMA zu vermehrter Bildung von Verwachsungen führen kann.

5.2. Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Stabilität der Sehnennaht

Diese Studie hat gezeigt, dass die Sehnenenden aus der 4-Strang-Gruppe wesentlich weniger dazu neigen, sich voneinander zu distanzieren, als diejenigen der 2-Strang-Gruppe. Mit diesem Ergebnis war aufgrund der aktuellen Datenlage zu rechnen: Das Einbringen von acht statt vier Kernnähten hat in einer Studie ebenfalls zu belastbareren Ergebnissen geführt (20), jedoch beschränkten sich diese Studien nur auf biomechanische Testungen. Des Weiteren scheint nicht nur die Anzahl der Stränge Einfluss auf die Stabilität der Naht zu haben. Die Interaktion zwischen gewählter Nahttechnik, Nahtmaterial und Art der Nachbehandlung können zu unterschiedlichen Ergebnissen führen (38, 40, 54). Eine andere Arbeit verglich ebenfalls die Belastbarkeit von 4- und 8-Strang-Nähten. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass 8-Strang-Nähte belastbarer sind, jedoch keinen Einfluss auf das Auseinanderweichen der beiden Sehnenenden haben (40). Diese Ergebnisse sind aus vielerlei Gründen nur bedingt vergleichbar mit den Ergebnissen der vorgestellten Arbeit. Die verwendeten Nahtmaterialien Ethibond, Ethilon und Supramid, jeweils bestehend aus Polyester, Nylon und Polyamid weisen andere biomechanische

Eigenschaften als FiberWire® auf (9) und es wurden teilweise andere Nahttechniken verwendet.

In dieser Arbeit wurde die Überlegenheit der 4-Strang-Naht gegenüber der 2-Strang-Naht als hoch signifikant mit einer Effektstärke von 21,6 % nachgewiesen. Zudem kann davon ausgegangen werden, dass das Einbringen eines Kollagen-Elastin-Vlieses mit der Länge des Heilungsprozesses interagiert: Insgesamt zeigten diejenigen Sehnen, die nach acht Wochen entnommen worden sind, diskret mehr Distanzbildung, welche aber statistisch nicht als signifikant angesehen wird. Noch deutlicher wird der Unterschied zwischen den Wochengruppen, wenn man lediglich die Distanzbildung von allen Präparaten ohne Matriderm® vergleicht (Mittelwerte 3 Wochen: 0,42; 8 Wochen: 1,0). Bei denjenigen Sehnen, welche mit Matriderm® ummantelt waren, verhielt es sich umgekehrt (Mittelwerte: 3 Wochen: 1,2; 8 Wochen: 0,86). In einem anderen Modell konnte nachgewiesen werden, dass lediglich eine höhere Belastung der 4-Strang-Naht notwendig ist, um eine Lückenbildung zu provozieren (38). Unter der Annahme, dass längere aktive Mobilisation mit mehr Belastung der Sehnennaht einhergeht, decken sich die Ergebnisse dieser Studie mit der aktuellen Datenlage zur Überlegenheit der 4-Strang-Naht auf die Stabilität der Sehnennaht.

Der Grund dafür, dass sich die Sehnenheilung unter Distanzbildung makroskopisch bei Matriderm®-Ummantelung umgekehrt verhält, kann man in der ausgeprägten Entzündungsreaktion vermuten. Die von drei nach acht Wochen regressiv verlaufende Entzündung könnte zur vermehrten Aktivierung von Fibroblasten und damit auch zu einer höheren Sezernierung von Extrazellulärmatrix führen. Die Konsequenz daraus ist, dass makroskopisch eine geringere Distanz sichtbar ist.

5.2.2 Makroskopisches und mikroskopisches Adhäsionsausmaß

Peritendinöse Adhäsionen zählen zu den häufigsten postoperativen Komplikationen nach Sehnentraumata. Bisher gibt es verschiedene Ansätze mit Hilfe einer mechanischen Barriere biologischer oder synthetischer Art die Bildung von Adhäsionen zu reduzieren. Karakurum et al. und Menderes et al. untersuchten die Wirkung einer Membran aus Hyaluronsäure und Carboxymethyl-Cellulose, um das

Auftreten von Adhäsionen zu verringern. Beide Studien konnten am Tiermodell die Bildung von Adhäsionen schmälern (55, 19). Tierexperimentelle Modelle mit Amnion aus humanen Plazentas (56) in Kombination mit Hyaluronsäure (57) oder Hyaluronsäure selbst (58) wurde von den Autoren ebenfalls als geeignet befunden. Klinische Studien hierzu gibt es allerdings bisher nicht.

Mentzel, et al. konnten in einer klinischen Studie am Patienten keine signifikanten Unterschiede in der Behandlung mit ADCON-T/N finden, einem resorbierbaren Gel, aufgebaut aus Gelatine und einem Carbohydrat-Polymer (59).

Bei der Evaluation des makroskopischen Adhäsionsausmaßes konnten keine signifikanten Unterschiede in den unterschiedlichen Nahttechniken beobachtet werden. Dies bedeutet, dass das Einbringen von vier statt zwei Kernnähten makroskopisch nicht zu mehr Verklebungen geführt hat. Die Einlage von Matriderm® führte zu hochsignifikant besseren makroskopischen Ergebnissen, die sich mikroskopisch nicht bestätigt haben. Dabei konnten auch signifikant schlechtere Ergebnisse in der acht Wochengruppe festgestellt werden, die sich mikroskopisch ebenfalls nicht bestätigten.

Schwierigkeiten bei der Bestimmung des Adhäsionsausmaßes verursachte die nach drei Wochen noch deutlich sichtbare Kollagen-Elastin-Ummantelung. Die Sehne war dadurch makroskopisch zum Zeitpunkt der Entnahme nur eingeschränkt beurteilbar, wirkte also makroskopisch intakt, obwohl mikroskopisch eine narbig überbrückte Distanz der Sehnenenden vorlag.

Durch den Einsatz von Matriderm® konnte mikroskopisch keine signifikante Reduktion von Adhäsionen erzielt werden. Die Verwendung einer 4-Strang-Naht führt nicht zu vermehrter Bildung von Adhäsionen. Auch auf mikroskopischer Ebene kann eine Empfehlung zur Verwendung von 4-Strang-Naht ausgesprochen werden.

5.2.3 Entzündungsreaktion

Der zelluläre Ablauf einer Sehnenheilung folgt den klassischen Wundheilungsverläufen von Inflammation, Proliferation, Synthese und Apoptose.

Nach einem Sehnentrauma kommt es unmittelbar zur Einwanderung von Entzündungszellen. Neutrophile Granulozyten stellen dabei die dominierende Zellart dar. Nach etwa fünf Tagen ist die Leukozyteninfiltration etwa auf die Hälfte des Höchststandes innerhalb der ersten 24 Stunden abgesunken. Makrophagen wandern ebenfalls in das Entzündungsgebiet ein und erreichen um den 21. Tag ihren Höchststand (27).

Ziel war es, mit Hilfe von Matriderm® eine Barriere zu schaffen, um das Einwandern von Entzündungszellen zu verringern.

Studien haben gezeigt, dass eine Entzündungsreaktion für die primäre Sehnenheilung nicht zwingend notwendig ist (60-61). Vielmehr wird davon ausgegangen, dass inflammatorische Zellen synoviale Fibroblasten aktivieren, deren Fibronectin-Freisetzung eine Grundlage für die Bildung von Adhäsionen darstellt (61). Ein wichtiger Faktor zur Provokation von Adhäsionen stellt die Immobilisation der betroffenen Sehne dar. In dieser Studie wurden die Versuchstiere jedoch aktiv nachbehandelt, sodass mit weniger Verklebungen zu rechnen wäre als bei Behandlungsmodellen mit Immobilisierung.

Die Zellzählung CAE-positiver Zellen bestätigte die aktuelle Datenlage zur Entzündungszellinfiltration: Alle Präparate wiesen nach drei Wochen hohe Zellzahlen auf, welche nach acht Wochen in allen Gruppen deutlich zurückgingen. Eine sehr ausgeprägte Immunreaktion nach drei Wochen zeigte sich bei der Matriderm® Gruppe. Es ist daher anzunehmen, dass die Einlage des Kollagen-Elastin-Vlies eine deutlich stärkere Entzündungsreaktion verursacht, die aber nach 8 Wochen fast auf das Niveau der Gruppe ohne Kollagen-Elastin-Vlies abgefallen ist. Obwohl Matriderm® in dieser experimentellen Arbeit eine ausgeprägte Leukozyteninfiltration triggert, konnten nicht signifikant mehr Verklebungen in dieser Gruppe beobachtet werden. Massive Infiltration CAE-positiver Zellen muss demnach nicht zwangsläufig mit vermehrter Bildung von Adhäsionen einhergehen. Kein signifikanter Unterschied konnte bei den verschiedenen Nahttechniken nachgewiesen werden. Lediglich diskret erhöhte Zellzahlen in der 4-Strang-Naht Gruppe konnten nachgewiesen werden. Dies ist immerhin ein Hinweis, dass das Einbringen von mehr Nahtmaterial zu vermehrter intratendinöser Entzündungsreaktion führt. Bei einer 8-Strang-Kernnaht verstärkt sich dieser Effekt womöglich.

5.2.4 Fibroblastendifferenzierung

Fibroblasten von Synovialgewebe besitzen die Eigenschaft, sich in Myofibroblasten zu differenzieren. Es wird angenommen, dass die Differenzierung von Fibroblasten des Granulationsgewebes für eine normale Wundheilung eine wichtige Rolle im Heilungsprozess einnimmt (52). Fibroblasten produzieren in großen Mengen Bestandteile der Extrazellulärmatrix wie Kollagen und Fibronectin. Sie sind physiologischer Bestandteil unterschiedlicher Gewebearten. Myofibroblasten werden normalerweise nicht in gesundem Gewebe gefunden, erscheinen jedoch als eine Reaktion auf Signale einer Verletzung oder eines Heilungsprozesses (51). Die Unterscheidung von Fibroblasten gelingt durch das von den Myofibroblasten spezifisch exprimierte α -SMA (62). Bei α -SMA handelt es sich um ein kontraktiles Actinfilament dessen Transkription im ACTA-Gen reguliert wird. Kontraktionen von Myofibroblasten führen zusammen mit Synthese und Abbau von ECM zu einer Umgestaltung von Gewebe. Diese Kontraktionen verhalten sich nicht wie die reversiblen und vergleichbar kurzen Kontraktionen der quergestreiften oder glatten Muskulatur, sondern müssen als irreversibel mit einer Dauer von Wochen bis Jahren angesehen werden (63). Die Regulation der Differenzierung von Fibroblast zu Myofibroblast wurde bisher vor allem anhand von Myofibroblasten Marker-Genen, insbesondere von α -SMA, erforscht. Unterschiedliche Aktivierungskaskaden scheinen jeweils unterschiedliche Einflüsse auf die Differenzierung zu haben (64). Die Anwesenheit von Myofibroblasten an sich darf nicht unmittelbar als prognostisch ungünstig angesehen werden, sondern ist ein wichtiger Bestandteil der Gewebereaktion. Studien haben gezeigt, dass eine Unterdrückung der α -SMA-Genexpression mit verminderter Produktion von ECM einher gehen kann (51). Umgekehrt kann eine Überaktivität von Myofibroblasten schädlich sein und zur Ausbildung organspezifischer Fibrosen führen (63).

Diese Studie zeigte nach drei Wochen eine hohe α -SMA-Expression in den Präparaten, welche nach acht Wochen auf etwa ein Drittel abgesunken ist. Ein Rückgang der α -SMA-Expression wurde auch in anderen Studien beobachtet und kann als eine normale Gewebereaktion angenommen werden (27).

Matriderm® führte zur Hochregulation von α -SMA. Die stärkere Aktivierung von Myofibroblasten könnte längerfristig zu vermehrter Bildung von Narbengewebe und

damit zu schlechteren operativen Ergebnissen führen. Hier ist auch der wesentliche Unterschied von Kaninchenmodell und Mensch nicht zu vernachlässigen. Das Kaninchen benutzt trotz stattgehabter Naht die verletzte Extremität unter Vollbelastung, sodass trotz vermehrter Entzündungsreaktion das Gleiten der Sehne erzwungen wird. Ein verletzter Mensch hingegen wird schmerzbedingt den verletzten Finger bei Bildung von Adhäsionen weniger benutzen. Die Nahttechnik hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Fibroblastendifferenzierung. Es kann geschlussfolgert werden, dass eine höhere Kernnahtanzahl nicht zwangsläufig die Bildung von mehr Narbengewebe induziert.

5.3 Limitation und Ausblick

Diese experimentelle Studie untersuchte patophysiologische Veränderungen nach induziertem Sehnentrauma und Möglichkeiten, eine stabilere Sehnennaht zu verankern, ohne das Auftreten von vermehrten Entzündungsreaktionen und Adhäsionen zu begünstigen. Gleichzeitig wurde untersucht, ob eine Ummantelung der Sehne mit einer hochporösen Matrix aus Kollagen-Elastin zu einer besseren Sehnenheilung mit geringer Bildung von Adhäsionen führt. Molekulare Mechanismen der Regeneration wurden dabei nicht untersucht.

Auf biomechanische Belastbarkeitstestungen der reparierten Sehnen wurde in dieser Arbeit verzichtet. Ob die deutlich stärker ausgeprägte Entzündungsreaktion, die durch Matriderm® verursacht wurde, zu schlechteren biomechanischen Ergebnissen geführt hätte, bleibt unklar. Makroskopisch sahen alle Sehnen mit Matriderm®-Behandlung fester aus und zeigten eine geringere Distanz zwischen den Sehnenenden als die Sehnen ohne Vlies. Dies spricht für eine höhere Festigkeit. Es wird davon ausgegangen, dass durch das ausgeprägte Belastungsmodell der Sehnennaht, verbunden mit einer erhöhten Entzündungsaktivität, ein festerer Narbenstrang entstanden ist. Die Kollagenart wurde dabei nicht untersucht.

Matriderm® ersetzt bei Verbrennungen die Verschiebeschicht unter der Epidermis. Matriderm® im Rahmen einer Beugesehnennaht ebenfalls als Verschiebeschicht zu benutzen, kann nach den hier vorliegenden Ergebnissen nicht empfohlen werden.

Die Zweistrangnaht nach Kirchmayr-Kessler zählt klinisch zu den häufig eingesetzten Nahttechniken zur Versorgung von Beugesehnenverletzungen. Dass eine höhere Kernnahtzahl mit stabileren Sehnennähten einhergeht, konnte in einigen Studien gezeigt werden. Diese Studie konnte zusätzlich die Überlegenheit der 4-Strang-Naht gegenüber der 2-Strang-Naht zeigen.

Es kann davon ausgegangen werden, dass Matriderm® keine Behandlungsmöglichkeit in der Beugesehnenchirurgie beim Menschen darstellt: Die Bildung eines bindegewebig anmutenden Stranges, welcher ein Gleiten der Sehne im osteofibrösen Kanal erschwert, die Kinetik der Entzündungsreaktion und der Nachweis gesteigerter proliferativer Aktivität des extrazellulären Gewebes, sprechen gegen eine Anwendung beim Menschen. Gleichzeitig ist anzunehmen, dass Patienten von einer erhöhten Kernnahtzahl profitieren können. Die Verwendung der 4-Strang-Naht führte zu signifikant weniger Distanzbildung der beiden Sehnenenden. Dabei konnten keine signifikant erhöhten zellulären und extrazellulären Entzündungsreaktionen oder ein Einfluss auf die Induktion von Adhäsionen gefunden werden.

6. Thesen

Thema: Der Einfluss einer Kollagen-Elastin-Matrix auf die Beugesehnenheilung beim Kaninchen.

- Beugesehnenverletzungen mit allen Folgen stellen ein wesentliches Problem in der Handchirurgie dar.
- Die Sehnenheilung unterliegt vielfältigen Faktoren, die letztendlich in ihrer Gesamtheit das Ergebnis bestimmen.
- Ziel ist es nach wie vor, Faktoren zu minimieren, die eine extrinsisch induzierte Sehnenregeneration begünstigen und jene zu fördern, die einen positiven Einfluss auf intrinsische Heilung haben.
- Die Idee, eine Barriere zu errichten, um die Immigration von Synovialzellen zu verhindern und eine Gleitfunktion der Sehne zu ermöglichen, stellt weiterhin eine Herausforderung dar.
- Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss einer Verdopplung der Kernnahtzahl auf die Sehnenregeneration, insbesondere auf die Entzündungsaktivität und die Bildung von Adhäsionen, zu untersuchen. Gleichzeitig wurde überprüft, ob sich eine Kollagen-Elastin-Matrix als Barriere zur Prävention von Adhäsionen eignet und sich durch das Vlies eine Verbesserung des Gleitens der Sehne mit einer damit verbundenen Adhäsionsverringerung erreichen lässt.
- Das Einbringen von vier statt zwei Kernnähten führte zu geringerer Distanzbildung der beiden Sehnenenden. Des Weiteren konnten keine Anhaltspunkte gefunden werden, die gegen das Einbringen von vier statt zwei Kernnähten sprechen.
- Eine Ummantelung mit Matriderm® hat zu keinen besseren Ergebnissen geführt. Es konnte eine ausgeprägtere Entzündungsreaktion und

Fibroblastendifferenzierung nachgewiesen werden, welche gegen die Verwendung sprechen.

7. Literaturverzeichnis

1. *Tendon healing: repair and regeneration.* **Voleti, Pramod B., Buckley, Mark R. und Soslowsky, Louis J.** Pennsylvania : 2012, Annual Review of Biomedical Engineering, Bd.14, S. 47-71.

2. *Tendon biomechanics and mechanobiology--a minireview of basic concepts and recent advancements.* **Wang, James H-C, Guo, Qianping und Li, Bin.** 2012, Journal of hand therapy, Bd. 25, S. 133-140.

3. *Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling.* **Sharma, P. und Mafulli, N.** 2006, Journal of musculoskeletal & neuronal interactions, Bd. 6(2), S. 181-190

4. **Towfigh, Hossein, et al.** *Handchirurgie.* Heidelberg : Springer-Verlag GmbH, 2011.

5. *Flexor tendon repair, rehabilitation, and reconstruction.* **Sandvall, Brinkley K., et al.** 2013, Plastic and reconstructive surgery, Bd. 132, S. 1493-1503.

6. *The mechanics of flexor tendon adhesions.* **Branford, O.A., et al.** 2011, Journal of Hand Surgery (European Volume), Bd. 37E(6), S. 555-563.

7. *Comparison of zones 1 to 4 flexor tendon repairs using absorbable and unabsorbable four-strand core sutures.* **Caulfield, R. H., et al.** 4, 2008, The Journal of Hand Surgery (European Volume), Bd. 33E, S. 412-417.

8. *A biomechanical analysis of suture materials and their influence on a four-strand flexor tendon repair.* **Lawrence, Tom M. und Davis, Tim R.C.** 2005, The Journal of Hand Surgery, Bd. 30A, S. 836-841.

9. *Optimum surgical suture material and methods to obtain high tensile strength at knots: problems of conventional knots and the reinforcement effect of adhesive*

- agent.* **Komatsu, Fumito, Mori, Ryuji und Uchio, Yuji.** 2006, Journal of Orthopaedic Science, Bd. 11, S. 70-74.
10. *Rat tendon morphologic and functional changes from soft tissue mobilization.* **Davidson, Craig J, et al.** März 1997, Medicine & Science in Sports & Exercise, Bd. 29, S. 313-319.
11. *Mechanical properties of collagen fascicles from stress-shielded patellar tendons in the rabbit.* **Yamamoto, Ei, Kozaburo, Hayashi und Noritaka, Yamamoto.** 1999, Clinical Biomechanics, Bd. 14, S. 418-425.
12. *Early active mobilisation following flexor tendon repair in Zone 2.* **Small, J. O., Brennen, M. D. und Colville, J.** 1989, Journal of Hand Surgery, Bd. 14B, S. 383-391.
13. *Active mobilisation after flexor tendon repair: comparison of results following injuries in zone 2 and other zones.* **Hung, LK, et al.** 2005, Journal of Orthopaedic Surgery, Bd. 13(2), S. 158-163.
14. *Systematic review of flexor tendon rehabilitation protocols in zone II of the hand.* **Chesney, Amy, et al.** 2011, Plast. Reconstr. Surg., Bd. 127, S. 1583-1592.
15. *Tendon's ultrastructure.* **Tresoldi, Ilaria, et al.,** 2013, Muscles, Ligaments and Tendons Journal, Bd. 3(1) S. 2-6.
16. **Löffler, Georg, Petrides, Petro E. und Heinrich, Peter C.** *Biochemie und Pathobiochemie.* Heidelberg : Springer Medizin Verlag, 2007. S. 718-738.
17. *Tenocytes from ruptured and tendinopathic achilles tendons produce greater quantities of type III collagen than tenocytes from normal achilles tendons.* **Maffulli, Nicola, et al.** 4, 2000, The American Journal of Sports Medicine, Bd. 28, S. 499-505.
18. *Structure of the tendon connective tissue.* **Kannus, Pekka.,** 2000, Medicine & Science in Sports, Bd. 10, S. 312-320.

19. *Prevention of peritendinous adhesions following flexor tendon injury with Seprafilm.* **Menderes, Adnan, et al.** 6, 2004, Annals of Plastic Surgery, Bd. 53, S. 560-564.

20. *The resistance of a four- and eight- strand suture technique to gap formation during tensile testing: an experimental study of repaired canine flexor tendons after 10 days of in vivo healing.* **Dinopoulos, Haralambos T., et al.** 2000, The Journal of Hand Surgery, Bd. 25A, S. 489-498.

21. *Bio-engineered synovial membrane to prevent tendon adhesions in rabbit flexor tendon model.* **Baymurat, AC, et al.** 2014, Journal of Biomedical Materials Research A, Bd. 00A, S. 000-000.

22. *Biomechanical and histologic evaluation of the tendon sheath management.* **Tang, Jin Bo, Shi, De und Zhang, Qi G.** 1996, The Journal of Hand Surgery, Bd. 21A, S. 900-908.

23. *Evaluation of simple and looped suture and new material for flexor tendon repair.* **Brockardt, C.J., et al.** 3, 2009, The Journal of Hand Surgery (European Volume), Bd. 34E, S. 329-332.

24. *Micromechanical properties and collagen composition of ruptured human achilles tendon.* **Hansen, Philip, et al.** 2, 2013, The American Journal of Sports Medicine, Bd. 41, S. 437-443.

25. *Efficiency of hyaloglides in the prevention of the recurrence of adhesions after tenolysis of flexor tendons in zone II: A randomized, controlled, multicentre clinical trial.* **Riccio, M., et al.** 2, 2010, The Journal of Hand Surgery (European Volume, 2010), Bd. 35E, S. 130-138.

26. *A new material for prevention of peritendinous fibrotic adhesions after tendon repair: Oxidised regenerated cellulose (Interceed), an absorbable adhesion barrier.* **Temiz, A., et al.** 2008, International Orthopaedics (SICOT), Bd. 32, S. 389-394.

27. *The cellular biology of flexor tendon adhesion formation.* **Wong, Jason K.F., et al.** 5, 2009, The American Journal of Pathology, Bd. 175, S. 1938-1951.

28. *Core suture purchase affects strength of tendon repairs.* **Tang, Jin Bo, et al.** 2005, The Journal of Hand Surgery, Bd. 30A, S. 1262-1266.

29. *Encircling the tendon repair site with collagen-GAG reduces the formation of postoperative tendon adhesions in a chicken flexor tendon model.* **Bhavsar, Dhaval, Shettko, Donna und Tenenhaus, Mayer.** 2010, Journal of Surgical Research, Bd. 159, S. 765-771.

30. *VEGF, VEGFR-1, and CTGF cell densities in tendon are increased with cyclical loading: an in vivo tendinopathy model.* **Nakama, Leena H., et al.** 2006, Journal of Orthopaedic Research, Bd. 24, S. 393-400.

31. *Resistance of a defect of the supraspinatus tendon to intraarticular hydrodynamic pressure: an experimental study on rabbits.* **Björkenheim, Jan-Magnus, et al.** 1990, Journal of Orthopaedic Research, Bd. 8, S. 175-179.

32. *Repair of patellar tendon injuries using a cell-collagen composite.* **Awad, Hani A., et al.** 2003, Journal of Orthopaedic Research, Bd. 21, S. 420-431.

33. *Single-stage Matriderm and skin grafting as an alternative reconstruction in high-voltage injuries.* **Ryssel, Henning, et al.** 5, 2010, International Wound Journal, Bd. 7, S. 385-392.

34. *The use of Matriderm in the management of an exposed Achilles tendon secondary to a burns injury.* **Boyce, Alexandra, et al.** 2010, Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery, Bd. 63, S. e206-e207.

35. *Use of a collagen-elastin matrix for hard to treat soft tissue defects.* **Wollina, U, Meseg, A und Weber, A.** 2011, International Wound Journal, Bd. 8, S. 291-296.

36. *Matriderm in depth-adjusted reconstruction of necrotising fasciitis defects.* **Ryssel, H., et al.** 2010, Burns, Bd. 36, S. 1107-1111.
37. *An evaluation of suture materials used in tendon surgery.* **Trail, I. A., Powell, E. S. und Noble, J.** 1989, The Journal of Hand Surgery, Bd. 14B, S. 422-427.
38. *Comperative biomechanical study of flexor tendon repair using FiberWire.* **Waitayawinyu, Thanapong, et al.** 2008, Journal of Hand Sourgery, Bd. 33A, S. 701-708.
39. *Number of suture throws and its impact on the biomechanical properties if the four-strand cruiciate locked flexor tendon repair with FiberWire.* **Le, S. V., et al.** (9), 2012, The Journal of Hand Sourgery (European Volume), Bd. 37E, S. 826-831.
40. *The Role of multiple strands and locking sutures on gap formation of flexor tendon repairs during cyclical loading.* **Barrie, Kimberly A., et al.** 2000, The Journal of Hand Surgery, Bd. 25A, S. 714-720.
41. *Adhesion formation after flexor tendon repair: A histologic and biomechanical comparison of 2- and 4-strand repairs in a chicken model.* **Strick, Margaret J., et al.** 2004, The Journal of Hand Surgery , S. 15-21.
42. *The effect of core suture flexor tendon repair techniques on gliding resistance during static cycle motion and load to failure: a human cadaver study.* **Moriya, T., et al.** 2012, Journal of Hand Surgery European Vol., Bd. 37(4), S. 316-322.
43. *The use of a hydrogel sealant on flexor tendon repairs to prevent adhesion formation.* **Ferguson, Robert E. H. und Rinker, Brian.** 1, 2006, Annals of Plastic Surgery, Bd. 56, S. 54-58.
44. *Management of peripheral injuries of the finger.* **Wichelhaus, A.** 2015, Unfallchirurg, Bd. 118(2), S. 155-166.

45. *Effect of Mitomycin-C on post-operative adhesions in tendon surgery.* **Kocaoglu, B., et al.** 2010, J Bone Joint Surg, Bd. 92-B, S. 889-893.

46. *Effect of pro-inflammatory and immunoregulatory cytokines on human tenocytes.* **John, Thilo, et al.** 2010, Journal Of Orthopaedic Research, Bd. 28, S. 1071-1077.

47. *The biology of interleukin-6.* **Hirano, T.** 1992, Chemical Immunology, Bd. 51, S. 153-180.

48. *Tendon healing in interleukin-4 and interleukin-6 knockout mice.* **Lin, Tony W., et al.** 2006, Journal of Biomechanics, Bd. 39, S. 61-96.

49. *Multimarker immunohistochemical staining of calgranulins, chloracetate esterase, and S100 for simultaneous demonstration of inflammatory cells on paraffin sections.* **Chilosi, Marco, et al.** 11, 1990, The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, Bd. 38, S. 1669-1675.

50. **Kashima, T. G., et al.** *Use of chloracetate esterase staining for the histological diagnosis of prosthetic joint infection.* [Hrsg.] Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Heidelberg : s.n., 19. Januar 2015.

51. *Fibroblast-myofibroblast transition is differentially regulated by bronchial epithelial cells from asthmatic children.* **Reeves, Stephen R, et al.** 21, 2015, Respiratory Research, Bd. 16, S. 1-12.

52. *Transforming growth factor β 1 and interleukin 4 induced α smooth muscle actin expression and myofibroblast-like differentiation in human synovial fibroblasts in vitro: modulation by basic fibroblast growth factor.* **Mattey, D L, et al.** 1997, Annals of the Rheumatic Diseases, Bd. 56, S. 426-431.

53. *Alpha-smooth muscle actin expression in cultured lens epithelial cells.* **Nagamoto, Toshiyuki, Eguchi, Goro und Beebe, David C.** 5, 2000, Investigative Ophtalmology & Visual Science, Bd. 41, S. 1122-1129.

54. *Influence of core suture material and peripheral repair technique on the strength of kessler flexor tendon repair.* **Mishra, V., Kuiper, J. H. und Kelly, C. P.** 4, 2003, Journal of Hand Surgery, Bd. 28B, S. 357-362.

55. *Seprafilm interposition for preventing adhesion formation after tenolysis.* **Karakurum, Gunham, et al.** 2003, Journal of Surgical Research, Bd. 113, S. 195-200.

56. *The use of amniotic membrane in flexor tendon repair: an experimental model.* **Demirkan, Fahir, et al.** 2002, Arch Orthop Trauma Surg, Bd. 122, S. 396-399.

57. *The effects of a combination of hyaluronic and amniotic membrane on the formation of peritendinous adhesions after flexor tendon surgery in chickens.* **Özgenel, G. Y.** 2, 2004, J Bone Joint Surg (BR), Bd. 86-B, S. 301-307.

58. *Prevention of restrictive adhesions in primary tendon repair by HA-membrane: experimental reserach in chickens.* **İşik, S., et al.** 1999, British Journal of Plastic Sourgery, Bd. 52, S. 373-379.

59. *The effectiveness of ADCON-T/N, a new anti-adhesion barrier gel, in fresh divisions of the flexor tendon in Zone II.* **Mentzel, M., et al.** 6, 2000, Journal of Hand Surgery, Bd. 25B, S. 590-592.

60. *Tendon healing in vivo.* **Abrahamsson, Sven-Olof, Lundborg, Göran und Lohmander, L. Stefan.** 1989, Scand J Plast Reconstr Surg, Bd. 23, S. 199-205.

61. *The accumulation of inflammatory cells in synovial sheath and epitenon during adhesion formation in healing rat flexor tendons.* **Wojciak, B. und Crossan, J. F.** 1993, Clin Exp Immunol, Bd. 93, S. 108-114.

62. *Formation and funktion of the myofibroblast during tissue repair.* **Hinz, Boris.** 2007, Journal of Investigative Dermatology, Bd. 127, S. 526-537.

63. *Recent developments in myofibroblast biology: paradigms for connective tissue remodeling.* **Hinz, Boris, et al.** 4, 2012, The American Journal of Pathology, Bd. 180, S. 1340-1355.

64. *Myofibroblasts.* **Hu, Biao und Phan, Sem H.** 1, 2013, Curr Opin Rheumatol, Bd. 25, S. 71-77.

8. Publikationen

„The effect of a collagen-elastin matrix on adhesion formation after flexor tendon repair in a rabbit model“

Journal: Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery

DOI 10.1007/s00402-016-2472-2

„Four-strand core suture improves flexor tendon repair compared to two-strand technique in a rabbit model“

Journal: BioMed Research International

DOI: 10.1155/2016/4063137

9. Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass die vorliegende Arbeit von mir selbstständig und nur unter Benutzung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel erstellt worden ist. Die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen sind als solche kenntlich gemacht.

Ich versichere weiterhin, dass diese Arbeit nicht vorher und auch nicht gleichzeitig, weder im Ausland noch im Inland, in gleicher oder ähnlicher Form bei einer anderen als der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock zur Eröffnung eines Promotionsverfahrens eingereicht worden ist.

Rostock, 15/09/2016

10. Danksagung

Mein Dank gilt insbesondere Frau Dr. med. Alice Wichelhaus für die ausgezeichnete Betreuung meiner Arbeit. Jede Phase dieser Dissertation wurde von Ihr intensiv, professionell und warmherzig begleitet. Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. med. Thomas Mittlmeier für die finanzielle und wissenschaftliche Unterstützung des Projektes.

Außerdem danke ich Frau Prof. Dr. med. Brigitte Vollmar für die durchweg freundliche und hilfsbereite Unterstützung während der Versuchsphase an ihrem Institut. Mein Dank gilt allen Mitarbeitern des Institutes für experimentelle Chirurgie. Insbesondere ein großes Dankeschön an Frau Dorothea Frenz für die unkomplizierte und tatkräftige Hilfe. Ein weiteres Dankeschön gilt allen Tierpflegern und Tierärzten für die verantwortungsvolle prä- und postoperative Betreuung sowie Pflege der Versuchstiere.

Darüber hinaus möchte ich mich ganz herzlich bei meinen Freunden Carsten Köhler, Andreas Lange, Juliane Ebeling und Ulrike Raschke für die technische und mentale Unterstützung bedanken.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern und meinem Bruder, die mich stets in allen Belangen des Lebens gefördert haben und mir meine Ausbildung ermöglichten.

Danke, dass Ihr immer bereit seid das Beste für mich zu tun und alles Erdenkliche dafür gebt.